



MicroVue™ Bone
CICP EIA

EN, DE, IT, FR

2) This document contains bookmarks. To view correctly use Adobe Reader or Adobe Acrobat software.

12) Dieses Dokument enthält Lesezeichen. Um die korrekte Verwendung von Adobe Reader oder Adobe Acrobat-Software anzuzeigen.

22) Questo documento contiene i segnalibri. Per visualizzare correttamente utilizzare Adobe Reader o Adobe Acrobat software.

32) Ce document contient des signets. Pour afficher correctement l'utilisation du logiciel Adobe Reader ou Adobe Acrobat.



An enzyme immunoassay to quantitatively measure C-terminal Propeptide of Type I Collagen (CICP) in Serum

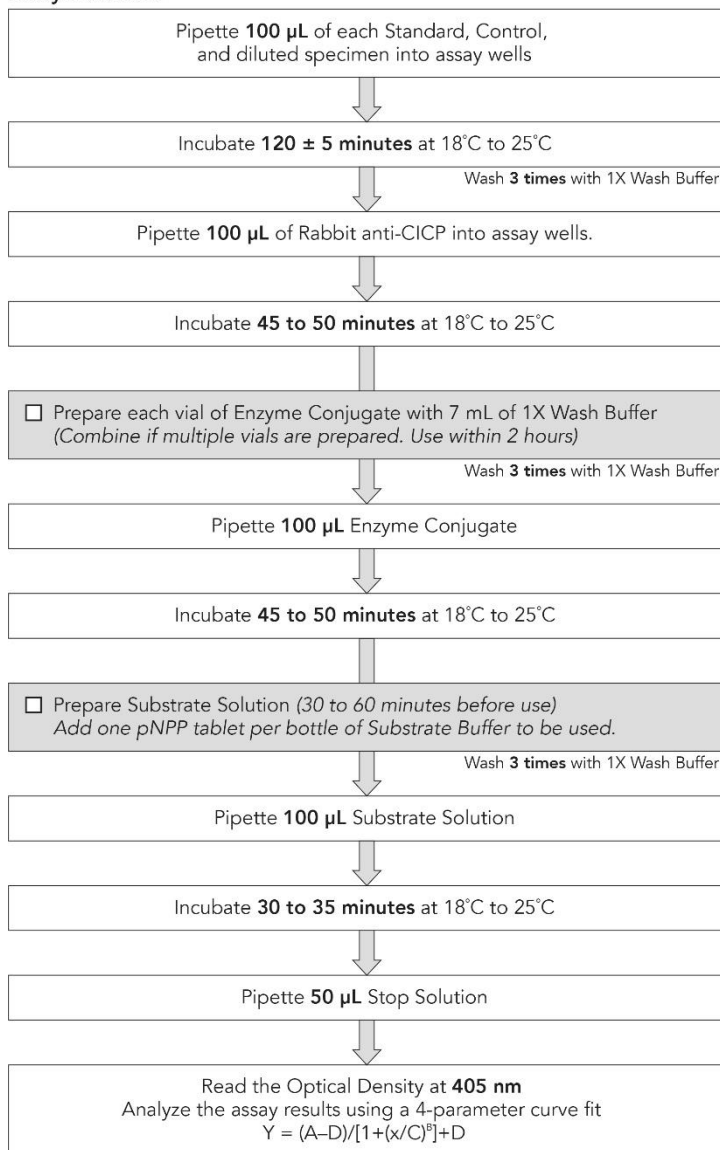
For *In Vitro* Diagnostic Use. For export only. Not for sale or use in the United States or Canada.

SUMMARY

Reagents and Samples Preparation

- ☐ Dilute 10X Wash Buffer 1:10 with DI water.
- ☐ Dilute Specimens 1:12 with Assay Buffer
(3.g. 25 μ L serum + 275 μ L Assay Buffer)

Assay Procedure





INTENDED USE

The MicroVue CICP Assay is an enzyme immunoassay to quantitatively measure C-terminal Propeptide of Type I Collagen (CICP) in Serum.

SUMMARY AND EXPLANATION

Collagen, the triple-helical molecule which forms the fibrous framework of all connective tissues, is synthesized as procollagen, a larger precursor molecule. Procollagen consists of mature collagen with extension peptides at both the amino and carboxy termini. These extension peptides, or propeptides, are cleaved from the collagen molecule by specific proteases prior to incorporation of collagen into a growing collagen fibril. The release of these peptides into the circulation provides a stoichiometric representation of the production of collagen.

The MicroVue CICP EIA Kit provides a quantitative method for determining levels of CICP (C-Terminal of Type I Collagen) in serum. Levels of CICP are indicative of collagen production *in vivo*. As the primary organic constituent of bone, Type I Collagen levels have been linked to bone growth and formation. Elevated levels of CICP have been shown in diseases associated with high levels of bone turnover, including Paget's disease of the bone, hyperthyroidism, primary hyperparathyroidism and renal osteodystrophy. In some cases, elevated levels of CICP have also been documented in early menopause. Low levels of CICP have been shown in growth hormone-deficient children.

PRINCIPLE OF THE PROCEDURE

The MicroVue CICP assay is a sandwich enzyme immunoassay in a microtiter plate format utilizing a monoclonal anti-CICP antibody coated on the plate, a rabbit anti-CICP antiserum, a goat anti-rabbit alkaline phosphatase conjugate, and a pNPP substrate to quantify CICP in human serum.

REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED

96 Assays for the C-terminal Propeptide of Type I Collagen in Serum

MicroVue CICP EIA kit contains the following:

A	CICP Standards:	Parts 4138-4143	0.75 mL each
B	Standards A-F, ready to use, concentration see Certificate of Analysis. CICP purified from human		
C	fibroblast cells in a buffered solution containing nonionic detergent, stabilizer, and sodium azide		
D	(0.05%) as a preservative		
E			
F			
L	Low Control	Part 4144	0.75 mL
	CICP purified from human fibroblast cells in a buffered solution containing nonionic detergent, stabilizer, and sodium azide (0.05%) as a preservative		
H	High Control	Part 4145	0.75 mL
	CICP purified from human fibroblast cells in a buffered solution containing nonionic detergent, stabilizer, and sodium azide (0.05%) as a preservative		
1	Coated Strips	Part 4672	12 each
	Purified murine monoclonal anti-CICP antibody adsorbed onto stripwells		
2	Stop Solution	Part 4702	15 mL
	0.5 N NaOH		

3	10X Wash Buffer Nonionic detergent in a buffered solution containing sodium azide (0.05%) as a preservative	Part 4703	55 mL
4	Assay Buffer A buffered solution containing nonionic detergent, stabilizer, and sodium azide (0.05%) as a preservative	Part 4150	20 mL
5	Substrate Buffer A diethanolamine and magnesium chloride solution containing sodium azide (0.05%) as a preservative	Part 4705	10 mL, 3 each
6	Substrate Tablets p-Nitrophenyl phosphate	Part 0012	20 mg, 3 each
7	Enzyme Conjugate Lyophilized goat anti-rabbit IgG antibody conjugated to alkaline phosphatase containing buffer salts and stabilizers	Part 4149	3 vials
8	Rabbit anti-CICP Rabbit polyclonal anti-CICP antibody in a buffered solution containing nonionic detergent, stabilizer, and sodium azide (0.05%) as a preservative	Part 4148	14 mL

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Micropipettes to deliver 25-300 µL
- Labware suitable for liquid measurement of 7-300 mL
- Tubes for dilution of samples
- Container for wash buffer dilution
- Deionized or distilled water
- Plate reader capable of reading at 405 nm
- 4-parameter calibration curve fitting software

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures (U.S. only).
- Treat specimen samples as potentially biohazardous material. Follow Universal Precautions when handling contents of this kit and any patient samples.
- Use the supplied reagents as an integral unit prior to the expiration date indicated on the package label.
- Store assay reagents as indicated.
- Do not use Coated Strips if pouch is punctured.
- The Stop Solution (0.5 N NaOH) is considered corrosive and can cause irritation. Do not ingest. Avoid contact with skin, eyes or clothing. If contact is made, wash with water. If ingested, call a physician.
- Sodium azide is used as a preservative. Incidental contact with or ingestion of buffers containing sodium azide can cause irritation to the skin, eyes, or mouth. Only use buffers for intended purposes and avoid contact with acids. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Upon disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.
- The substrate buffer contains diethanolamine and may cause irritation to the eyes and/or skin with prolonged contact. Contacted areas should be immediately washed with soap and water.
- Use of multichannel pipettes or repeat pipettors is recommended to ensure the timely delivery of reagents.
- For accurate measurement of samples, add samples and standards precisely. Pipette carefully using only calibrated equipment.

- Proper collection and storage of test specimens are essential for accurate results (see *SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE*).
- Avoid microbial or cross-contamination of specimens or reagents.
- Test each sample in duplicate.
- Do not use a microassay well for more than one test.
- Using incubation times and temperatures other than those indicated in the *ASSAY PROCEDURE* section may give erroneous results.
- Do not allow microassay wells to dry once the assay has begun.
- When [adding or] removing liquid from the microassay wells, do not scrape or touch the bottom of the wells.
- Heat inactivated, hyperlipemic, or contaminated specimens may give erroneous results.
- To avoid aerosol formation during washing, use an apparatus to aspirate the wash fluid into a bottle containing household bleach.
- This assay may be performed with any validated washing method.
- Testing should be performed in an area with adequate ventilation.
- Dispose of containers and unused contents in accordance with Federal, State and Local regulatory requirements.
- Wear suitable protective clothing, gloves, and eye/face protection when handling the contents of this kit.
- Wash hands thoroughly after handling.
- For additional information on hazard symbols, safety, handling and disposal of the components within this kit, please refer to the Safety Data Sheet (SDS) located at quidel.com.

STORAGE

Store kit at 2°C to 8°C. Store unused reagents at 2°C to 8°C. Store 1X Wash Buffer (10X diluted) at 18°C to 28°C.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect the serum specimens using standard venipuncture technique, without anti-coagulants, and in such a way to avoid hemolysis. Allow the blood to clot and separate the serum by centrifugation. Store serum refrigerated (2°C to 8°C) for storage of less than 5 days, or frozen at $\leq -20^{\circ}\text{C}$ for longer storage. Do not subject the samples to more than 3 freeze/thaw cycles.

REAGENT PREPARATION

Equilibrate reagents to 18°C to 25°C prior to use.

Coated Strips

Remove Stripwell Frame and the required number of Coated Strips from the pouch (see table in *ASSAY PROCEDURE* section). Ensure that the pouch containing any unused strips is completely resealed.

Wash Buffer

Prepare required amount of 1X Wash Buffer (see table) by diluting 10X Wash Buffer 1:10 with deionized water. Store at 18°C to 28°C. Use 1X Wash Buffer within 21 days of preparation.

Enzyme Conjugate

Prepare Enzyme Conjugate within 2 hours of use. Reconstitute each required vial of Enzyme Conjugate (see table) with 7 mL of 1X Wash Buffer. Allow the pellet to completely dissolve. Discard remaining Enzyme Conjugate after use.

Working Substrate Solution

Prepare Working Substrate Solution within 1 hour of use. Put one Substrate Tablet into each required bottle of 18°C to 25°C Substrate Buffer (see table). Allow 30 to 60 minutes for tablet(s) to dissolve. Vigorously shake bottle(s) to completely mix. Discard remaining Working Substrate Solution after use.

ASSAY PROCEDURE

Read entire product insert before beginning the assay.

See REAGENT PREPARATION before proceeding.

Determine amount of each reagent required for the number of strips to be used.

# of Strips	4	6	8	12
# of Samples (tested in duplicate)	8	16	24	40
Enzyme Conjugate (vial)	1	1	2*	2*
Substrate Buffer (bottle)	1	1	2*	2*
1X Wash Buffer (mL)	100	150	200	300

*When more than one bottle or vial is to be used, combine the contents and mix prior to use

Sample Dilution/Incubation

1. Dilute serum samples 1:12 with Assay Buffer (e.g. 25 µL serum + 275 µL Assay Buffer).
2. Allow pouch of Coated Strips to equilibrate to 18°C to 25°C before opening. Remove Stripwell Frame and the required number of Coated Strips from the pouch (see table). Ensure that the pouch containing unused strips is completely resealed and contains desiccant.
3. Place desired number of Coated Strips in Stripwell Frame just prior to use. Label strips to prevent mix-up in case of accidental removal from Stripwell Frame.
4. Add 100 µL Standards, Controls, or diluted serum sample to each well of the Coated Strips. This step should be completed within 30 minutes.
5. Incubate 120 ± 5 minutes at 18°C to 25°C.

Washing Step (1)

6. Prepare required amount of 1X Wash Buffer (see table) by diluting 10X Wash Buffer concentrate 1:10 with deionized water. Store at 18°C to 28°C. Use 1X Wash Buffer within 21 days of preparation.
7. Manually invert/empty strips. Add at least 300 µL of 1X Wash Buffer to each well and manually invert/empty strips. Repeat two more times for a total of three washes. Vigorously blot the strips dry on paper towels after the last wash.

Antibody Incubation

8. Add 100 µL of Rabbit anti-CICP to each well.
9. Incubate 45 to 50 minutes at 18°C to 25°C.
10. While incubating, prepare Enzyme Conjugate. Reconstitute each required vial of Enzyme Conjugate (see table) with 7 mL of 1X Wash Buffer. Mix thoroughly. Use within 2 hours.

Washing Step (2)

11. Manually invert/empty strips. Add at least 300 µL of 1X Wash Buffer to each well and manually invert/empty strips. Repeat two more times for a total of three washes. Vigorously blot the strips dry on paper towels after the last wash.

Enzyme Conjugate Incubation

12. Add 100 µL of reconstituted Enzyme Conjugate to each well.
13. Incubate — 45 to 50 minutes at 18°C to 25°C.
14. While incubating, prepare Working Substrate Solution. Put one Substrate Tablet into each required bottle of 18°C to 25°C Substrate Buffer (see table). Allow —30 to 60 minutes for tablet(s) to dissolve. Vigorously shake bottle(s) to completely mix. Use within 1 hour.

Washing Step (3)

15. Manually invert/empty strips. Add at least 300 µL of 1X Wash Buffer to each well and manually invert/empty strips. Repeat two more times for a total of three washes. Vigorously blot the strips dry on paper towels after the last wash.

Substrate Incubation

16. Add 100 µL of Working Substrate Solution to each well.
17. Incubate for —30 to 35 minutes at 18°C to 25°C. If room temperature cannot be maintained between 18°C to 25°C, and an absorbance of > 2.0 is not compatible with your plate reader, monitor the development of substrate in the Standard F wells; stop the reaction when the optical density reaches 1.2 to 1.5; then read the strip(s).

Stop/Read

18. Add 50 µL of Stop Solution to each well to stop the reaction.
19. Read the optical density at 405 nm. Assure that no large bubbles are present in wells and that the bottoms of the strips are clean. Read strips within 15 minutes of Stop Solution addition.
20. Use quantitation software with a 4-parameter calibration curve fitting equation (see below) to analyze the MicroVue CICP assay results.

$$\text{Equation: } y = (A-D)/(1+(x/C)^B)+D$$

21. Determine concentration of samples and Controls from the standard curve.
Dilute samples greater than 80 ng/mL in Assay Buffer and retest. Control values should be within the range specified in the Certificate of Analysis supplied with the kit.

QUALITY CONTROL

The Certificate of Analysis included in this kit is lot specific and is to be used to verify that the results obtained by your laboratory are similar to those obtained at Quidel Corporation.

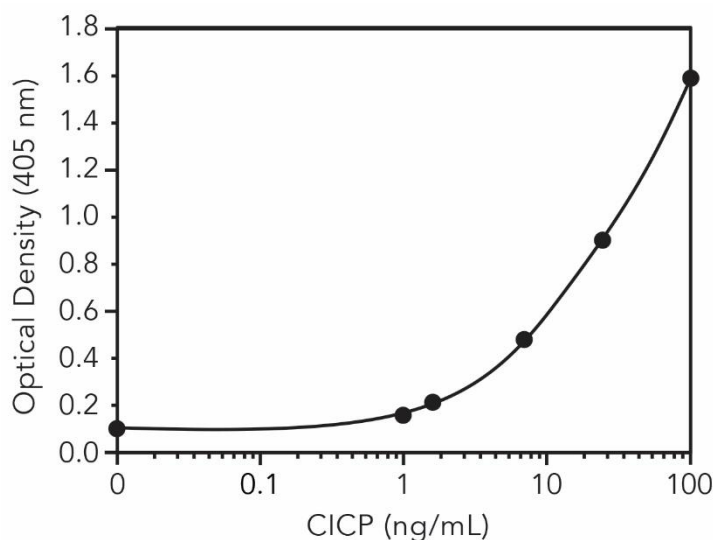
Quality control ranges are provided. The control values are intended to verify the validity of the curve and sample results. Each laboratory should establish its own parameters for acceptable assay limits. If the control values are NOT within your laboratory's acceptance limits, the assay results should be considered questionable and the samples should be repeated.

If the optical density of the MicroVue CICP Standard F is less than 0.8, the results should be considered questionable, and the samples should be repeated.

INTERPRETATION OF RESULTS

Sample results must be corrected for the dilution made. If the sample was diluted 1:12, multiply the ng/mL value by 12 for the final result of serum CICP in ng/mL.

Representative Standard Curve



EXAMPLE VALUES

In our testing of 279 adults over 25 years of age, values obtained from the MicroVue CICP kit ranged from 69 to 163 ng/mL. In our testing of 370 children 4 to 18 years of age, CICP values obtained ranged from 110 to 966 ng/mL, with a mean of 326 CICP ng/mL. Values may be influenced by such factors as growth, low estrogen production, low calcium intake or low physical activity. Estrogen deficiency in post-menopausal women can result in elevated bone turnover, and thus collagen production. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE OF THE TEST

Specificity of the Antibodies

The anti-CICP antibodies have been raised against CICP derived from human fibroblast cells in culture. The antibodies demonstrate 100% cross-reactivity with CICP in human serum.

Limits of Detection

The minimum analytical detection limit of the MicroVue CICP Assay is 0.2 ng/mL, determined by the upper 3 SD limit in a zero standard study.

Precision

Within-run and between-run precision were determined by assaying three serum samples. Typical results are provided below.

CICP (ng/mL)	Within-run ¹ C.V. (%)	Between-run ² C.V. (%)
80.8	6.8	7.0
98.1	5.5	7.2
296.7	6.6	5.0

¹n = 20 replicates ²n = 3 in 3 runs

Recovery – Linearity

Linearity was determined by serially diluting samples and comparing observed values with expected values. Typical results are provided below.

Sample	Dilution Factor	Observed (ng/mL)	Expected (ng/mL)	Recovery (%)
1	1:12	6.90	–	–
	1:24	3.50	3.45	101
	1:48	1.74	1.72	101
2	1:12	13.26	–	–
	1:24	6.56	6.63	99
	1:48	3.49	3.32	105
3	1:12	20.88	–	–
	1:24	10.43	10.44	100
	1:48	5.57	5.22	107

Recovery – Spike Recovery

Spike recovery was determined by adding known quantities of purified CICP to serum samples with different levels of endogenous CICP. Typical results are provided below.

Sample	Endogenous (ng/mL)	Added (ng/mL)	Observed (ng/mL)	Recovery (%)
1	9.09	13.24	22.28	100
		31.77	45.96	102
2	10.34	13.10	13.00	97
		32.71	43.05	96
3	12.43	13.24	22.28	100
		31.77	41.55	102

ASSISTANCE

To place an order or for technical support, please contact a Quidel Representative at 800.874.1517 (in the U.S.) or 858.552.1100 (outside the U.S.), Monday through Friday, from 8:00 a.m. to 5:00 p.m., Eastern Time. Orders may also be placed by fax at (740) 592-9820. For e-mail support contact customerservice@quidel.com or technicalsupport@quidel.com.

For services outside the U.S.A., please contact your local distributor. Additional information about Quidel, our products, and our distributors can be found on our website quidel.com.

REFERENCES

1. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.
2. Melkko J, Niemi S, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxy terminal propeptide of human type I procollagen. *Clin. Chem.* 1990;36:1328-1332.
3. Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM. Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone: Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J. Bone. Miner. Res.* 1987;2:427-436.
4. Saggese G, Bertelloni S, Baroncelli GI, Di Nero G. Serum levels of carboxy-terminal propeptide of type I procollagen in healthy children from first year of life to adulthood and in metabolic bone diseases. *Eur. J. Pediatr.* 1992;151:764-768.
5. Simon LS, Krane SM, Wortman PD, Krane IM, Kovitz KL. Serum levels of type I and III procollagen fragments in Paget's disease of bone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1984;58:110-120.
6. Trivedi P, Risteli J, Risteli L, Hindmarsh PC, Brook CG, Mowat AP. Serum concentrations of type I and III procollagen propeptides as biochemical markers of growth velocity in healthy infants and children and in children with growth disorders. *Pediatr. Res.* 1991;30:276-280.
7. Winterbottom N, Vernon S, Freeman K, Daniloff GY, Garner P, Seyedin S. A serum immunoassay for the C-terminal propeptide of type I collagen. *J. Bone. Miner. Res.* 1993;8:S341. (abst)

REF

8003 – MicroVue CICP EIA Kit

IVD



EC

REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PI8003000EN00 (10/17)

GLOSSARY

REF

Catalogue number



CE mark of conformity

EC REP

Authorized Representative
in the European Community

LOT

Batch code



Use by



Manufacturer



Temperature limitation



Intended use



Consult e-labeling
instructions for use

IVD

For *In Vitro* diagnostic use



Contains sufficient for 96 determinations

CONT

Contents/Contains

CONTROL

Control

Enzym-Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von C-terminalem Propeptid in Typ-I-Kollagen (CICP) in Serum

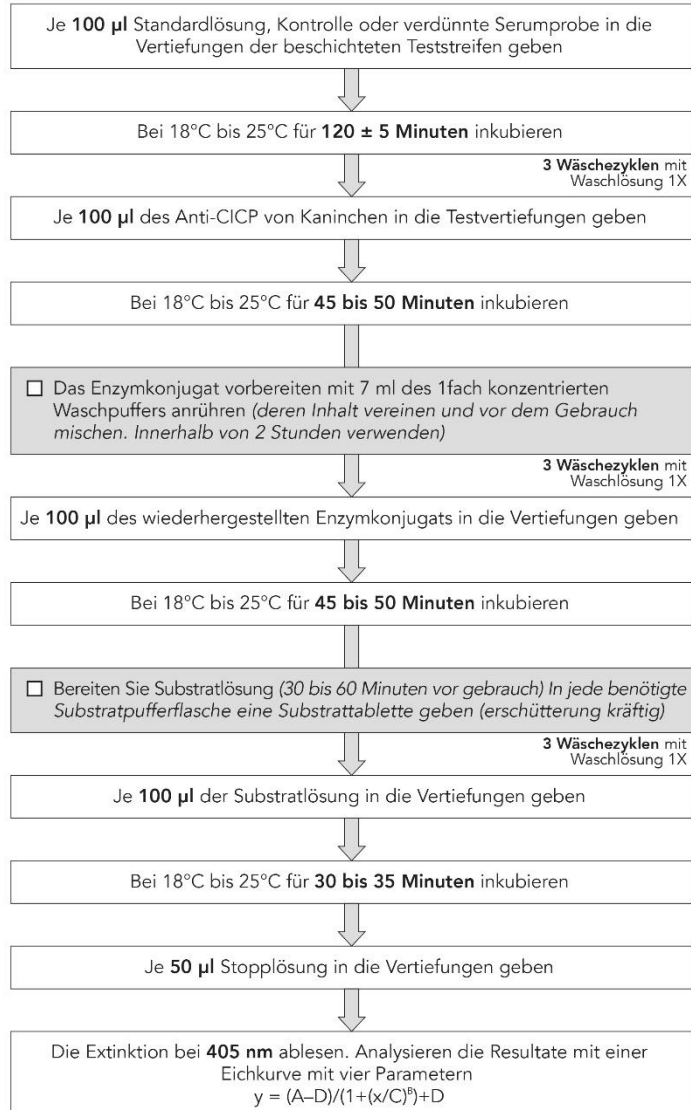
Zur *in-vitro*-diagnostischen Anwendung. Nur für die Ausfuhr. Nicht zum Verkauf oder zur Anwendung in den USA oder Kanada bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG

Vorbereitung von Reagenzien und Proben

- ☐ Indem 10fach konzentrierter Waschpuffer im Verhältnis 1:10 mit vollentsalztem Wasser verdünnt wird
- ☐ Die Serumproben im Verhältnis 1:12 mit Testpufferlösung verdünnen (z. B. 25 µl Serum + 275 µl Testpufferlösung)

Testverfahren





VORGESEHENER VERWENDUNGSZWECK

Ein enzyme-immunoassay zur quantitativen Bestimmung von C-terminalem Propeptid in Typ-I-Kollagen (CICP) in Serum.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNGEN

Kollagen ist ein zu einer Tripelhelix verdrehtes Molekül, das die fibrilläre Struktur aller Bindegewebe bildet. Gebildet wird es als Prokollagen, ein größeres Vorstufenmolekül. Prokollagen besteht aus reifem Kollagen mit carboxy- und aminoterminalen Extensionspeptiden. Diese auch als Propeptide bezeichneten Extensionspeptide werden vor der Einlagerung des Kollagens in die wachsenden Kollagenfibrillen durch spezifische Proteasen vom Kollagenmolekül abgespalten. Diese Freigabe von Peptiden in die Zirkulation dient als stöchiometrisches Maß für die Kollagenbildung.

Das MicroVue CICP EIA-Kit ist eine Methode zur quantitativen Bestimmung von CICP (C-terminalem Propeptid in Typ-I-Kollagen) in Serum. Die CICP-Konzentration ist ein Indikator für die *In-vivo*-Kollagenproduktion. Typ-I-Kollagen wird mit dem Wachstum und der Bildung von Knochen in Verbindung gebracht, stellt es doch den wichtigsten organischen Bestandteil des Knochens dar. Erhöhte Konzentrationen von CICP wurde bei Krankheiten beobachtet, die mit einem hohen Knochenumsatz verbunden werden, so z. B. bei der Paget-Krankheit, der Hyperthyreose, dem primären Hyperparathyroidismus und der renalen Osteodystrophie. In einigen Fällen wurde auch von erhöhten CICP-Konzentrationen in der frühen Menopause berichtet. Niedrige Konzentrationen von CICP wurden bei Kindern mit Wachstums-
hormonmangel nachgewiesen.

FUNKTIONSPRINZIP

Der MicroVue CICP Assay – ein Enzym-Immunoassay nach dem Sandwichprinzip, der auf einer Mikrotiterplatte durchgeführt wird – beruht zur quantitativen Bestimmung von CICP in Humanserum auf einem monoklonalen Anti-CICP-Antikörper, mit dem die Platte beschichtet ist, einem Anti-CICP-Antiserum von Kaninchen, einem alkalischen Anti-Kaninchen-Phosphatasekonjugat von Ziegen und einem pNPP-Substrat.

REAGENZIEN UND MITGELIEFERTE MATERIALIEN

96 Bestimmungen für C-terminales Propeptid von Typ-I-Kollagen in Serum

Der MicroVue CICP EIA Kit enthält folgende Komponenten:

A	CICP-Standardlösungen	Artikel Nr. 4138-4143	je 0,75 ml
B	Standard A-F, gebrauchsfertig, Konzentrationen sind auf dem Analysezertifikat angegeben		
C	Von humanen Fibroblastzellen gewonnenes CICP in einer Pufferlösung aus nicht ionischem		
D	Detergens, Stabilisatoren und Natriumazid (0,05%) als Konservierungsmittel		
E			
F			
L	Niedrige Kontrolle	Artikel Nr. 4144	0,75 ml
	Von humanen Fibroblastzellen gewonnenes CICP in einer Pufferlösung aus nicht ionischem		
	Detergens, Stabilisatoren und Natriumazid (0,05%) als Konservierungsmittel		
H	Hohe Kontrolle	Artikel Nr. 4145	0,75 ml
	Von humanen Fibroblastzellen gewonnenes CICP in einer Pufferlösung aus nicht ionischem		
	Detergens, Stabilisatoren und Natriumazid (0,05%) als Konservierungsmittel		
1	Beschichtete Teststreifen	Artikel Nr. 4672	je 12
	Gereinigte monoklonale Anti-CICP-Antikörper von Mäusen absorbiert auf die Vertiefungen der		
	Teststreifen		

2	Stopplösung 0,5 N NaOH	Artikel Nr. 4702	15 ml
3	10X konzentrierter Waschpuffer Nicht ionisches Detergens in Pufferlösung mit Natriumazid (0,05%) als Konservierungsmittel	Artikel Nr. 4703	55 ml
4	Testpufferlösung Gepufferte Lösung aus nicht ionischem Detergens, Stabilisator und Natriumazid (0,05%) als Konservierungsmittel	Artikel Nr. 4150	20 ml
5	Substratpuffer Eine Lösung aus Diethanolamin und Magnesiumchlorid mit Natriumazid (0,05%) als Konservierungsmittel	Artikel Nr. 4705	3 x 10 ml
6	Substrattabletten p-Nitrophenylphosphat	Artikel Nr. 0012	3 x 20 mg
7	Enzymkonjugat Lyophilisierter IgG-Ziegenantikörper gegen Kaninchen im Konjugat mit alkalischer Phosphatase. Enthält Puffersalze und Stabilisatoren	Artikel Nr. 4149	3 fläschchen
8	Anti-CICP von Kaninchen Polyklonaler Anti-CICP-Antikörper von Kaninchen in einer Pufferlösung aus nicht ionischem Detergens, Stabilisator und Natriumazid (0,05%) als Konservierungsmittel	Artikel Nr. 4148	14 ml

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG)

- Mikropipetten zum Pipettieren von 25-300 µL
- Geräte zum Abmessen von Flüssigkeiten im Volumenbereich von 7-300 ml
- Röhrchen zum Verdünnen von Proben
- Behälter für die Waschpufferverdünnung
- Vollentsalztes oder destilliertes Wasser
- Plattenlesegerät für Extinktionsmessungen bei 405 nm
- Software zum Anpassen von Kalibrierkurven (4 Parameter)

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur für Forschungszwecke in den USA. Nicht als diagnostisches Verfahren geeignet (nur USA).
- Proben als potenziell gefährliches biologisches Material behandeln. Beim Arbeiten mit diesem Kit und den Proben allgemein gültige Vorsichtsmaßnahmen befolgen.
- Die mitgelieferten Reagenzien als eine zusammengehörende Einheit vor dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Die Reagenzien des Assays wie angegeben lagern.
- Die beschichteten Teststreifen nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt ist.
- Stopplösung (0,5 N NaOH) ist ätzend und kann zu Reizungen der Haut. Nicht einnehmen. Berührung mit Haut, Augen und Kleidung vermeiden. Bei Berührung mit Wasser abwaschen. Bei Einnahme einen Arzt konsultieren.
- Natriumazid wird als Konservierungsstoff verwendet. Der unbeabsichtigte Kontakt mit Pufferlösungen, die Natriumazid enthalten, bzw. deren Einnahme kann zu Reizungen der Haut, der Augen oder des Mundes führen. Die Pufferlösungen nur für die vorgesehenen Verwendungszwecke einsetzen und den Kontakt mit Säuren vermeiden. Natriumazid kann beim Kontakt mit Kupfer- und Bleirohren hochexplosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung mit viel Wasser nachspülen, um eine Anreicherung von Aziden zu vermeiden.
- Der Substratpuffer enthält 2,2'-Imino-diethanol und kann bei anhaltendem Kontakt Reizungen der Augen und/oder der Haut verursachen. Betroffene Bereiche nach dem Kontakt sofort mit Wasser und Seife waschen.
- Für ein zügiges und effizientes Dosieren von Flüssigkeiten wird der Gebrauch von Mehrkanal- oder Mehrfachpipetten empfohlen.

- Zum Gewährleisten genauer Messungen bei der Zugabe der Proben und Standardlösungen genau arbeiten. Beim Pipettieren vorsichtig vorgehen und nur kalibrierte Geräte verwenden.
- Für den Erhalt genauer Ergebnisse müssen die Proben fachgerecht entnommen und aufbewahrt werden (siehe *ENTNAHME UND LAGERUNG DER PROBEN*).
- Eine mikrobielle Kontamination bzw. Kreuzkontamination der Proben und Reagenzien ist zu vermeiden. Eine Kontamination kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Jede Probe als Duplikat testen.
- Die Mikroassay-Vertiefungen jeweils nur für eine Bestimmung verwenden.
- Durch die Verwendung von Inkubationszeiten und -temperaturen, die von den unter *TESTVERFAHREN* gegebenen Werten abweichen, können falsche Ergebnisse auftreten.
- Die Mikroassay-Vertiefungen nach dem Start des Tests nicht austrocknen lassen.
- Beim Entfernen von Flüssigkeiten von den Mikroassay-Vertiefungen nicht den Boden der Vertiefungen ankratzen oder berühren.
- Hitzeinaktivierte, hyperlipämische oder kontaminierte Proben können zu falschen Ergebnissen führen.
- Um beim Waschen die Bildung von Aerosolen zu vermeiden, eine Vorrichtung verwenden, mit der die Waschflüssigkeit in eine Flasche mit haushaltsüblichem Bleichmittel gesaugt wird.
- Für diesen Assay kann eine beliebige anerkannte Waschmethode eingesetzt werden.
- Testverfahren in Bereichen mit angemessener Belüftung durchführen.
- Behälter und ungenutzte Inhaltsstoffe gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.
- Bei der Handhabung der Kitkomponenten geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
- Bitte lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDB) auf quidel.com, um weitere Informationen zu Gefahrensymbolen, Sicherheit, Handhabung und Entsorgung der Komponenten in diesem Kit zu erhalten.

LAGERUNG

Den Kit und nicht benutzte Reagenzien bei 2°C bis 8°C aufbewahren. Den 1X Waschpuffer bei 18°C bis 28°C aufbewahren.

ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Die Serumproben durch übliche Venenpunktionen entnehmen und ohne Antikoagulanzen aufbewahren. Darauf achten, dass keine Hämolysereaktionen auftreten. Das Blut koagulieren lassen und das Serum mittels Zentrifugation trennen. Die Serumprobe für bis zu 5 Tage gekühlt (2°C bis 8°C) aufbewahren, darüber hinaus die Probe bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ einfrieren. Die Proben dürfen nicht mehr als dreimal eingefroren/aufgetaut werden.

VORBEREITUNG VON REAGENZIEN

Die Reagenzien und Materialien vor dem Gebrauch auf 18°C bis 28°C bringen.

Beschichtete Teststreifen

Den Teststreifenträger und die benötigte Anzahl beschichteter Teststreifen aus dem Beutel entnehmen (siehe Tabelle unter *TESTVERFAHREN*). Darauf achten, dass der Beutel, sofern er ungenutzte Teststreifen enthält, wieder richtig verschlossen wird.

Waschpuffer

Das benötigte Volumen des 1X konzentrierten Waschpuffers (siehe Tabelle) vorbereiten, indem 10X konzentrierter Waschpuffer im Verhältnis 1:10 mit vollentsalztem Wasser verdünnt wird. Bei 18°C bis 28°C aufbewahren. Den 1X konzentrierten Waschpuffer innerhalb von 21 Tagen nach dem Ansetzen verwenden.

Enzymkonjugat

Das Enzymkonjugat innerhalb von 2 Stunden vor Gebrauch ansetzen. Alle benötigten Fläschchen des Enzymkonjugats (siehe Tabelle) mit 7 ml des 1X Waschpuffers anrühren. Die Tablette vollständig auflösen lassen. Verbleibendes Enzymkonjugat nach dem Gebrauch verwerfen.

Substratlösung

Die Substratlösung innerhalb 1 Stunde vor dem Gebrauch ansetzen. In jede benötigte Substratpufferflasche (siehe Tabelle), die auf 18°C bis 25°C gebracht wurde, eine Substrattablette geben. Die Tablette(n) für 30 bis 60 Minuten auflösen lassen. Die Flasche(n) kräftig schütteln, um eine vollständige Auflösung zu erzielen. Verbleibende Substratlösung nach dem Gebrauch entsorgen.

TESTVERFAHREN

Vor der Durchführung des Tests die gesamte Packungsbeilage lesen.

Vor dem Fortfahren die unter VORBEREITUNG VON REAGENZIEN gegebenen Informationen einsehen.

Die Volumina der verschiedenen Reagenzien bestimmen, die für eine bestimmte Anzahl von Teststreifen benötigt werden.

Anz. der Teststreifen	4	6	8	12
Anz. der Proben (bestimmung in duplikaten)	8	16	24	40
Enzymkonjugat (Fläschchen)	1	1	2*	2*
Substratpuffer (Flasche)	1	1	2*	2*
1X-Waschpuffer (ml)	100	150	200	300

*Werden mehrere Flaschen oder Fläschchen benötigt, deren Inhalt vereinen und vor dem Gebrauch mischen.

Inkubation/Verdünnung der Proben

1. Die Serumproben im Verhältnis 1:12 mit Testpufferlösung verdünnen (z. B. 25 µL Serum + 275 µL Testpufferlösung).
2. Den Beutel der beschichteten Teststreifen vor dem Öffnen auf 18°C bis 25°C bringen. Den Teststreifenträger und die benötigte Anzahl der beschichteten Teststreifen aus dem Beutel nehmen (siehe Tabelle). Darauf achten, dass der Beutel, sofern er ungenutzte Teststreifen enthält, wieder richtig verschlossen wird und Trockenmittel enthält.
3. Die gewünschte Anzahl der beschichteten Teststreifen unmittelbar vor dem Gebrauch in den Teststreifenhalter legen. Die Teststreifen beschriften, damit sie nicht vertauscht werden können, sollte der Teststreifenträger unbeabsichtigt entfernt werden.
4. Je 100 µL Standardlösung, Kontrolle oder verdünnte Serumprobe in die Vertiefungen der beschichteten Teststreifen geben. Dieser Schritt sollte innerhalb von 30 Minuten abgeschlossen werden.
5. Bei 18°C bis 25°C für 120 ± 5 Minuten inkubieren.

Waschen — Schritt (1)

6. Das benötigte Volumen des 1fach konzentrierten Waschpuffers (siehe Tabelle) vorbereiten, indem 10X konzentrierter Waschpuffer im Verhältnis 1:10 mit vollentsalztem Wasser verdünnt wird. Bei 18°C bis 28°C aufbewahren. Den 1X Waschpuffer innerhalb von 21 Tagen nach dem Ansetzen verwenden.
7. Die Teststreifen manuell umdrehen/entleeren. Mindestens 300 µL des 1X Waschpuffers in jede Vertiefung geben und die Teststreifen manuell umdrehen/entleeren. Diesen Vorgang zweimal wiederholen, um insgesamt dreimal zu waschen. Die Teststreifen nach dem letzten Waschschrift durch kräftiges Ausschlagen auf ein Papierhandtuch trocknen.

Antikörperinkubation

8. Je 100 µL des Anti-CICP von Kaninchen in die Testvertiefungen geben.
9. Bei 18°C bis 25°C für 45-50 Minuten inkubieren.

10. Während der Inkubation das Enzymkonjugat vorbereiten. Alle benötigten Fläschchen des Enzymkonjugats (siehe Tabelle) mit 7 ml des 1X Waschpuffers anrühren und gut mischen. Innerhalb von 2 Stunden verwenden.

Waschen – Schritt (2)

11. Die Teststreifen manuell umdrehen/entleeren. Mindestens 300 µL des 1X Waschpuffers in jede Vertiefung geben und die Teststreifen manuell umdrehen/entleeren. Diesen Vorgang zweimal wiederholen, um insgesamt dreimal zu waschen. Die Teststreifen nach dem letzten Waschschrift durch kräftiges Ausschlagen auf ein Papierhandtuch trocknen.

Inkubation des Enzymkonjugats

12. Je 100 µL des wiederhergestellten Enzymkonjugats in die Vertiefungen geben.
13. Bei 18°C bis 25°C für 45 bis 50 Minuten inkubieren.
14. Während der Inkubation die Substratlösung vorbereiten. In jede benötigte Substratpufferflasche (siehe Tabelle), die auf 18°C bis 25°C gebracht wurde, eine Substratablette geben. Die Tablette(n) für 30 bis 60 Minuten auflösen lassen. Die Flasche(n) kräftig schütteln, um eine vollständige Auflösung zu erzielen. Innerhalb von 1 Stunde verwenden.

Waschen – Schritt (3)

15. Die Teststreifen manuell umdrehen/entleeren. Mindestens 300 µL des 1X Waschpuffers in jede Vertiefung geben und die Teststreifen manuell umdrehen/entleeren. Diesen Vorgang zweimal wiederholen, um insgesamt dreimal zu waschen. Die Teststreifen nach dem letzten Waschschrift durch kräftiges Ausschlagen auf ein Papierhandtuch trocknen.

Inkubieren des Substrats

16. Je 100 µL der Substratlösung in die Vertiefungen geben.
17. Bei 18°C bis 25°C für 30 bis 35 Minuten inkubieren. Wenn die Raumtemperatur nicht auf 18°C bis 25°C gehalten werden kann und eine Extinktion > 2,0 nicht mit dem verwendeten Plattenlesegerät gemessen werden kann, den Reaktionsverlauf des Substrats in den Vertiefungen mit Standardlösung F verfolgen. Die Reaktion stoppen, wenn die Extinktion Werte im Bereich von 1,2 bis 1,5 erreicht. Dann die Ergebnisse der Teststreifen ablesen.

Hinzugeben der Stopplösung und Ablesen des Ergebnisses

18. Zum Stoppen der Reaktion je 50 µL Stopplösung in die Vertiefungen geben.
19. Die Extinktion bei 405 nm ablesen. Darauf achten, dass sich in den Vertiefungen keine größeren Blasen befinden und dass die Unterseite der Teststreifen sauber ist. Die Ergebnisse der Teststreifen innerhalb von 15 Minuten nach der Zugabe der Stopplösung ablesen.
20. Zum Analysieren der MicroVue CICP Testergebnisse eine Quantifizierungssoftware zum Anpassen von vier parametrischen Kalibrierkurven verwenden (siehe unten).

$$\text{Gleichung: } y = (A-D)/(1+(x/C)^B)+D$$

21. Die Konzentration der Proben und Kontrollen anhand der Standardkurve bestimmen. Proben mit über 80 ng/ml mit Testpufferlösung verdünnen und erneut bestimmen. Die Kontrollwerte sollten innerhalb des Bereichs liegen, der im beiliegenden Analysezertifikat angegeben ist.

QUALITÄTSKONTROLLE

Das diesem Kit beiliegende Analysezertifikat ist Lot spezifisch und soll nachweisen, dass die von Ihrem Labor ermittelten Ergebnisse denen von Quidel entsprechen.

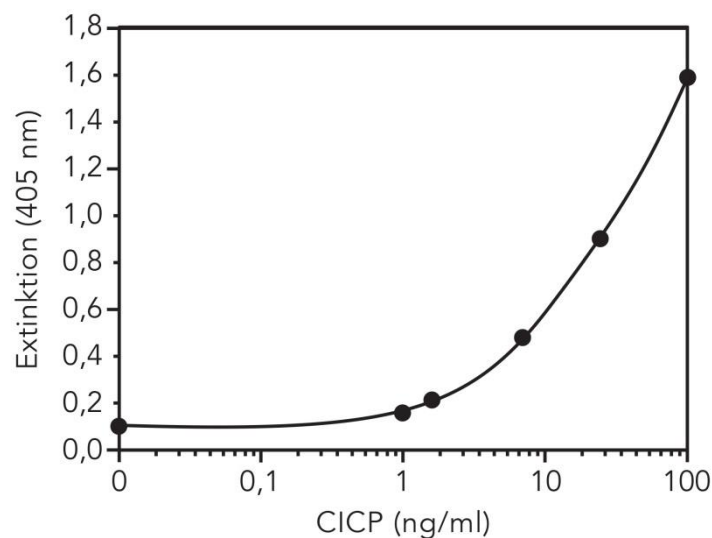
Die im Rahmen der Qualitätskontrolle zu verwendenden Bereiche sind angegeben. Die Kontrollwerte haben die Aufgabe, die Gültigkeit der Kurve und der Probenergebnisse zu bestätigen. Jedes Labor sollte eigene Kriterien festlegen, nach denen die Testergebnisse valide sind. Wenn die Kontrollwerte NICHT innerhalb der zulässigen Grenzwerte Ihres Labors liegen, sollten die Testergebnisse in Frage gestellt und die Proben wiederholt werden.

Wenn die Extinktion der MicroVue CICP Standardlösung F unter 0,8 liegt, sollten die Testergebnisse in Frage gestellt und die Probenmessung wiederholt werden.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Proben müssen für die vorgenommenen Verdünnungen korrigiert werden. Wurde die Probe im Verhältnis 1:12 verdünnt, den ng/ml-Wert mit dem Faktor 12 multiplizieren, um die endgültige CICP-Serumkonzentration in ng/ml zu erhalten.

Repräsentative Standardkurve



REFERENZBEREICHE

Bei den von uns durchgeführten Tests von 279 Erwachsenen über 25 Jahre wurden mit dem MicroVue CICP Kit Werte über den Bereich von 69 bis 163 ng/ml erhalten. Bei den von uns durchgeführten Tests an Kindern im Alter von 4 bis 18 Jahren wurden CICP-Werte über den Bereich von 110 bis 966 ng/ml mit einem Mittelwert von 326 ng/ml CICP erhalten.

Die Werte können durch Faktoren wie Wachstum, niedrige Östrogenproduktion, niedrige Kalziumaufnahme und geringe physische Aktivität beeinflusst werden. Ein bei postmenopausalen Frauen auftretender Östrogenmangel kann zu einem erhöhten Knochenumsatz und somit zur Produktion von Kollagen führen. Jedes Labor sollte einen eigenen Referenzbereich festlegen.

LEISTUNGSMERKMALE DES TESTS

Spezifität der Antikörper

Die Anti-CICP-Antikörper wurden gegen CICP von humanen Fibroblastzellen in Kulturen gezüchtet. Die Antikörper zeigten eine Kreuzreaktivität mit CICP in Humanserum von 100%.

Nachweisgrenzen

Die minimale Nachweisgrenze des MicroVue CICP Assay beträgt 0,2 ng/ml und wurde im Rahmen einer Nullstandardstudie an der 3fachen Standardabweichung festgelegt.

Präzision

Die Präzision „in der Serie“ und „von Serie zu Serie“ wurde durch die Bestimmung von 3 Serumproben ermittelt. Die Ergebnisse sind im Folgenden dargestellt.

CICP (ng/ml)	In der Serie¹ (VK%)	Von Serie zu Serie² (VK%)
80,8	6,8	7,0
98,1	5,5	7,2
296,7	6,6	5,0

¹n = 20 replikate ²n = 3 in 3 serien

Wiederfindung – Linearität

Die Linearität wurde ermittelt, indem eine serielle Verdünnungsreihe der Proben erstellt wurde und die gemessenen Werte mit den erwarteten Werten verglichen wurden. Die Ergebnisse sind im Folgenden dargestellt.

Probe	Verdünnung	Gemessen (ng/ml)	Erwartet (ng/ml)	Wiederfind. (%)
1	1:12	6,90	–	–
	1:24	3,50	3,45	101
	1:48	1,74	1,72	101
2	1:12	13,26	-	-
	1:24	6,56	6,63	99
	1:48	3,49	3,32	105
3	1:12	20,88	–	–
	1:24	10,43	10,44	100
	1:48	5,57	5,22	107

Wiederfindung – Spike-Wiederfindung

Die Spike-Wiederfindung wurde dadurch ermittelt, dass eine bekannte Menge an gereinigtem CICP zu Serumproben mit unterschiedlichen Konzentrationen von endogenem CICP hinzugegeben wurde. Die Ergebnisse sind im Folgenden dargestellt:

Probe	Endogen (ng/ml)	Hinzugefügt (ng/ml)	Gemessen (ng/ml)	Wiederfind. (%)
1	9,09	13,24	22,28	100
		31,77	45,96	102
2	10,34	13,10	13,00	97
		32,71	43,05	96
3	12,43	13,24	22,28	100
		31,77	41,55	102

UNTERSTÜTZUNG

Informationen zum Serviceangebot außerhalb der USA erhalten Sie von Ihrer Vertretung vor Ort. Zusätzliche Informationen zu Quidel, unseren Produkten und Vertretungen finden Sie auf unserer Website quidel.com.

LITERATURVERWEISE

1. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.
2. Melkko J, Niemi S, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxy terminal propeptide of human type I procollagen. *Clin. Chem.* 1990;36:1328-1332.
3. Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM. Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone: Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J. Bone. Miner. Res.* 1987;2:427-436.
4. Saggese G, Bertelloni S, Baroncelli GI, Di Nero G. Serum levels of carboxy-terminal propeptide of type I procollagen in healthy children from first year of life to adulthood and in metabolic bone diseases. *Eur. J. Pediatr.* 1992;151:764-768.
5. Simon LS, Krane SM, Wortman PD, Krane IM, Kovitz KL. Serum levels of type I and III procollagen fragments in Paget's disease of bone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1984;58:110-120.
6. Trivedi P, Risteli J, Risteli L, Hindmarsh PC, Brook CG, Mowat AP. Serum concentrations of type I and III procollagen propeptides as biochemical markers of growth velocity in healthy infants and children and in children with growth disorders. *Pediatr. Res.* 1991;30:276-280.
7. Winterbottom N, Vernon S, Freeman K, Danilo GY, Garnero P, Seyedin S. A serum immunoassay for the C-terminal propeptide of type I collagen. *J. Bone. Miner. Res.* 1993;8:S341. (abst)

REF

8003 – MicroVue CICP EIA Kit

IVD



EC

REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PI8003000DE00 (10/17)

GLOSSAR



Katalog-Nr.



CE-Konformitätskennzeichnung



Autorisierte Vertretung in der
Europäischen Gemeinschaft



Chargencode



Verwenden bis



Hersteller



Temperaturbegrenzung



Verwendungszweck



Consult E-Beschriftung
Gebrauchsanweisung beachten



Zur *In-vitro*-Diagnostik



Inhalt ist ausreichend für 96 Bestimmungen



Inhalt/Enthält



Kontrolle

Saggio immunoenzimatico per la misurazione quantitativa di propeptide C-terminale del collagene di tipo I (CICP) nel siero

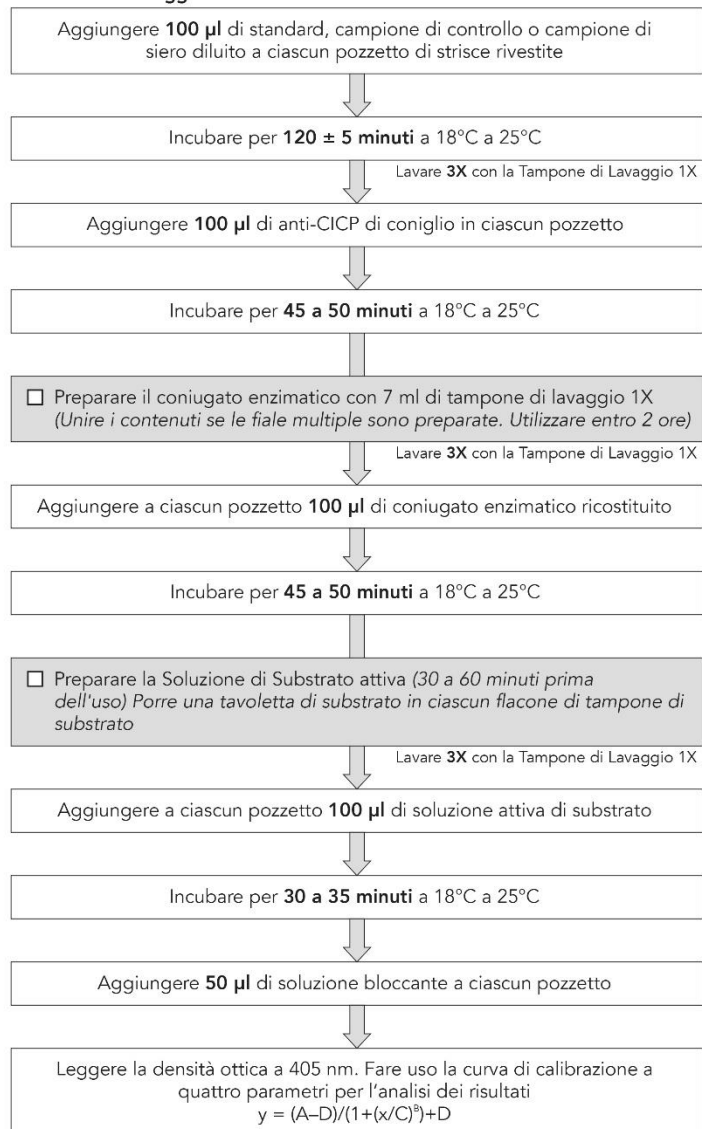
Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per esportazione. Non destinato alla vendita o all'uso negli Stati Uniti o in Canada.

SOMMARIO

Preparato di il Campione ed il reagente

- ☐ Diluire con acqua deionizzata il tampone di lavaggio 10X in un rapporto di 1:10
- ☐ Diluire i campioni di siero in un rapporto di 1:12 con tampone del saggio (ad esempio 25 µl di siero + 275 µl tampone del saggio)

Procedura del Saggio





FINALITÀ D'USO

Saggio immunoenzimatico per la misurazione quantitativa di propeptide C-terminale del collagene di tipo I (CICP) nel siero.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il collagene, la molecola a tripla elica che forma la struttura fibrosa di tutti i tessuti connettivi, viene sintetizzato come procollagene, una molecola precursore di dimensioni maggiori. Il procollagene contiene collagene maturo con peptidi di estensione ad entrambe le estremità amino- e carbossi-terminale. Tali peptidi di estensione, o propeptidi, vengono scissi dalla molecola di collagene tramite proteasi specifica prima dell'incorporamento del collagene in una fibrilla di collagene. Il rilascio di tali peptidi nella circolazione fornisce una rappresentazione stechiometrica della produzione di collagene.

Il MicroVue CICP EIA Kit fornisce un metodo quantitativo per determinare i livelli di CICP (terminale C del collagene di tipo I) nel siero. I livelli di CICP sono indicativi della produzione di collagene *in vivo*. In qualità di componente organico principale dell'osso, i livelli del collagene di tipo I sono stati collegati alla crescita e alla formazione dell'osso. Elevati livelli di CICP sono stati riscontrati in patologie associate ad alti livelli di ricambio osseo, compreso il morbo di Paget delle ossa, ipertiroidismo, iperparatiroidismo principale e osteodistrofia renale. In alcuni casi si sono documentati elevati livelli di CICP nella menopausa precoce. Bassi livelli di CICP sono stati rilevati nei bambini che presentano una carenza dell'ormone della crescita.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

MicroVue CICP assay è un saggio immunoenzimatico di tipo "sandwich" in formato di piastra per la microtitolazione che utilizza un anticorpo monoclonale anti-CICP rivestito sulla piastra, un antisiero anti-CICP di coniglio, un coniugato di fosfatasi alcalina anti-coniglio di capra e un substrato pNPP per la quantificazione del CICP nel siero umano.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI

96 saggi per il propeptide C-terminale del collagene di tipo I nel siero

MicroVue CICP EIA kit contiene i seguenti materiali:

A	Standard CICP	Codici 4138-4143	0,75 ml ciascuno
B	Standards A-F, pronti all'uso, per le concentrazioni vedere Certificato di analisi		
C	CICP purificato da cellule di fibroblasti umani in una soluzione tamponata contenente detergente		
D	nonionico, stabilizzatore e azide di sodio (0,05%) come conservante		
E			
F			
L	Campione di controllo	Codici 4144	0,75 ml
	CICP purificato da cellule di fibroblasti umani in una soluzione tamponata contenente detergente nonionico, stabilizzatore e azide di sodio (0,05%) come conservante		
H	Campione di controllo	Codici 4145	0,75 ml
	CICP purificato da cellule di fibroblasti umani in una soluzione tamponata contenente detergente nonionico, stabilizzatore e azide di sodio (0,05%) come conservante		
①	Strisce rivestite	Codice 4672	12 ciascuno
	Anticorpo monoclonale anti-CICP murino purificato assorbito in Stripwell		
②	Soluzione bloccante	Codice 4702	15 ml
	0,5 N NaOH		

3	Tampone di lavaggio 10X	Codice 4703	55 ml
	Detergente non ionico in una soluzione tamponata contenente azide di sodio (0,05%) come conservante		
4	Tampone saggio	Codice 4150	20 ml
	Soluzione tamponata contenente detergente nonionico, stabilizzatore e azide di sodio (0,05%) come conservante		
5	Tampone del substrato	Codice 4705	3 x 10 ml
	Soluzione di dietanolamina e cloruro di magnesio contenente azide di sodio (0,05%) come conservante		
6	Tavolette di substrato	Codice 0012	3 x 20 mg
	Fosfato di p-Nitrofenile		
7	Coniugato enzimatico	Codice 4149	3 fiale
	Anticorpo IgG di capra anti-coniglio liofilizzato coniugato con fosfatasi alcalina contenente sali del tampone e stabilizzatori		
8	Anti-CICP di coniglio	Codice 4148	14 ml
	Anticorpo policlonale di coniglio anti-CICP in una soluzione tamponata contenente detergente nonionico, stabilizzatore e azide di sodio (0,05%) come conservante		

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Micropipette per la fornitura di 25-300 µL
- Materiale da laboratorio idoneo alla misurazione di liquidi di 7-300 ml
- Provette per la diluizione di campioni
- Contenitore per la diluizione del tampone di lavaggio
- Acqua deionizzata o distillata
- Lettore per piastra in grado leggere a 405 nm
- Software per adattamento della curva di calibrazione a quattro parametri

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Per l'impiego a solo scopo di ricerca. Non previsto per l'uso in procedure diagnostiche (solo Stati Uniti).
- Trattare i campioni come materiale a potenziale rischio biologico. Seguire le precauzioni generali durante la manipolazione del contenuto di questo kit e di qualunque campione paziente.
- Usare i reagenti forniti come un'unità integrale prima della data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.
- Conservare i reagenti del saggio come indicato.
- Non usare le strisce rivestite se la busta protettiva è danneggiata.
- Il Soluzione bloccante (0,5 N NaOH) è considerato corrosivo e può causare irritazioni alla cute. Non ingerirlo. Evitare il contatto con la cute, gli occhi o gli indumenti. Se avviene il contatto, lavare con acqua. Se ingerito, consultare un medico.
- L'azide di sodio viene usato come conservante. Il contatto o l'ingestione accidentale di tamponi contenenti azide di sodio può causare irritazioni alla cute, agli occhi o alla bocca. Usare esclusivamente i tamponi per gli scopi previsti ed evitare il contatto con gli acidi. È possibile che l'azide di sodio reagisca con tubazioni in rame e in piombo e formi azidi metallici altamente esplosivi. Dopo lo smaltimento, lavare con una grande quantità di acqua per impedire l'accumulo di azide.
- Il tampone del substrato contiene dietanolamina e, in caso di contatto prolungato, può provocare irritazione agli occhi e/o alla cute. Occorre lavare immediatamente con sapone e acqua le aree entrate in contatto.
- Si consiglia l'uso di pipette multicanale o di pipettatori a ripetizione per garantire la fornitura veloce dei reagenti.
- Per una misurazione accurata dei campioni, aggiungere accuratamente i campioni e gli standard. Pipettare attentamente, usando esclusivamente apparecchiature calibrate.

- L'adeguata raccolta e conservazione dei campioni per il test sono essenziali per ottenere risultati accurati (fare riferimento alla sezione *PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI*).
- Evitare la contaminazione microbica o crociata di campioni o reagenti.
- Sottoporre a test ciascun campione in duplicato.
- Non utilizzare un pozzetto per microsaggio per più di un test.
- L'impostazione di tempi e temperature di incubazione diversi da quelli indicati nella sezione Procedura del saggio può fornire risultati errati.
- Dopo l'inizio del saggio, evitare che i pozzetti per microsaggio si asciughino.
- Quando si rimuove il liquido dai pozzetti per microsaggio, non raschiare né toccare il fondo dei pozzetti.
- Campioni inattivati a caldo, iperlipemici o contaminati possono fornire risultati errati.
- Per evitare la formazione di aerosol durante il lavaggio, utilizzare un'apparecchiatura per aspirare il liquido di lavaggio in un flacone contenente candeggina per uso domestico.
- Questo saggio può essere eseguito con qualunque metodo di lavaggio convalidato.
- I test devono essere effettuati in un'area dotata di ventilazione adeguata.
- Smaltire i contenitori e il contenuto inutilizzato in conformità con la normativa nazionale e locale in vigore.
- Indossare indumenti protettivi, guanti, e protezione occhio/viso durante l'utilizzo del kit.
- Lavarsi accuratamente le mani dopo la manipolazione.
- Per ulteriori informazioni su simboli di pericolo, sicurezza, manipolazione e smaltimento dei componenti di questo kit, consultare la scheda di sicurezza (SDS) reperibile su quidel.com.

CONSERVAZIONE

Conservare il kit a 2°C a 8°C. Conservare i reagenti inutilizzati a 2°C a 8°C. Conservare il tampone di lavaggio 1X (diluito 10X) a 18°C a 28°C.

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Prelevare i campioni di siero adottando una tecnica di venopuntura standard, senza usare anti-coagulanti e in modo da evitare l'emolisi. Lasciare che il sangue coaguli e separare il siero tramite centrifugazione. Il siero refrigerato (2°C a 8°C) può essere conservato per un periodo inferiore a 5 giorni, mentre congelato a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ può essere conservato per periodi più lunghi. Non sottoporre i campioni a più di 3 cicli di congelamento/ decongelamento.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Prima dell'uso, equilibrare i reagenti a 18°C a 25°C.

Strisce rivestite

Rimuovere dalla busta protettiva il telaio Stripwell e il numero necessario di strisce rivestite (fare riferimento alla tabella nella sezione *PROCEDURA DEL SAGGIO*). Verificare che la busta protettiva contenente qualunque striscia inutilizzata venga risigillata completamente.

Tampone di lavaggio

Preparare la quantità necessaria di tampone di lavaggio 1X (fare riferimento alla tabella) diluendo con acqua deionizzata il tampone di lavaggio 10X in un rapporto di 1:10. Conservare a 18°C a 28°C. Utilizzare il tampone di lavaggio 1X entro 21 giorni dalla preparazione.

Coniugato enzimatico

Preparare il coniugato enzimatico entro 2 ore dall'utilizzo. Ricostituire ciascuna fiala necessaria di coniugato enzimatico (fare riferimento alla tabella) con 7 ml di tampone di lavaggio 1X. Lasciar dissolvere completamente il pellet. Dopo l'uso, gettare il rimanente coniugato enzimatico.

Soluzione di substrato attiva

Preparare la soluzione di substrato attiva entro 1 ora dall'utilizzo. Porre una tavoletta di substrato in ciascun flacone necessario di tampone di substrato a 18°C a 25°C (fare riferimento alla tabella). Lasciar trascorrere 30-60 minuti per consentire alle tavolette di dissolversi. Agitare accuratamente i flaconi al fine di miscelarli completamente. Dopo l'uso, gettare la rimanente soluzione di substrato attiva.

PROCEDURA DEL SAGGIO

Prima di iniziare il saggio, leggere completamente l'inserito fornito con il prodotto.

Prima di procedere, fare riferimento a PREPARAZIONE DEL REAGENTE.

Determinare la quantità necessaria di ciascun reagente per il numero di strisce da usare.

# di strisce	4	6	8	12
# di campioni (sottoposti a test in duplicato)	8	16	24	40
Coniugato enzimatico (fiala)	1	1	2*	2*
Tampone del substrato (flacone)	1	1	2*	2*
Tampone di lavaggio 1X (ml)	100	150	200	300

*Quando viene usato più di un flacone o di una fiala, unire i contenuti e miscelarli prima dell'uso.

Diluizione/incubazione dei campioni

1. Diluire i campioni di siero in un rapporto di 1:12 con tampone del saggio (ad esempio 25 µL di siero + 275 µL tampone del saggio).
2. Prima dell'apertura, lasciare equilibrare a 18°C a 25°C la busta protettiva contenente le strisce rivestite. Rimuovere il telaio Stripwell dalla busta protettiva e il numero necessario di strisce rivestite (fare riferimento alla tabella). Verificare che la busta protettiva con le strisce inutilizzate venga risigillata completamente e che contenga l'essiccante.
3. Prima dell'uso, porre il numero desiderato di strisce rivestite nel telaio Stripwell. Etichettare le strisce per evitare di fare confusione nel caso di una rimozione accidentale dal telaio Stripwell.
4. Aggiungere 100 µL di standard, campione di controllo o campione di siero diluito a ciascun pozzetto di strisce rivestite. È necessario completare questa fase entro 30 minuti.
5. Incubare per 120 ± 5 minuti a 18°C a 25°C.

Fase di lavaggio (1)

6. Preparare la quantità necessaria di tampone di lavaggio 1X (fare riferimento alla tabella) diluendo con acqua deionizzata il tampone di lavaggio concentrato 10X in un rapporto di 1:10. Conservare a 18°C a 28°C. Utilizzare il tampone di lavaggio 1X entro 21 giorni dalla preparazione.
7. Capovolgere/svuotare manualmente le strisce. Aggiungere a ciascun pozzetto almeno 300 µL di tampone di lavaggio 1X e capovolgere/ svuotare le strisce. Ripetere la procedura per altre due volte, per un totale di tre lavaggi. Asciugare accuratamente le strisce su carta assorbente dopo l'ultimo lavaggio.

Incubazione dell'anticorpo

8. Aggiungere 100 µL di anti-CICP di coniglio in ciascun pozzetto.
9. Incubare per 45 a 50 minuti a 18°C a 25°C.
10. Durante l'incubazione preparare il coniugato enzimatico. Ricostituire ciascuna fiala necessaria di coniugato enzimatico (fare riferimento alla tabella) con 7 ml di tampone di lavaggio 1X. Miscelare completamente. Utilizzare entro 2 ore.

Fase di lavaggio (2)

11. Capovolgere/svuotare manualmente le strisce. Aggiungere a ciascun pozzetto almeno 300 µL di tampone di lavaggio 1X e capovolgere/ svuotare le strisce. Ripetere la procedura per altre due volte,

per un totale di tre lavaggi. Asciugare accuratamente le strisce su carta assorbente dopo l'ultimo lavaggio.

Incubazione del coniugato enzimatico

12. Aggiungere a ciascun pozzetto 100 µL di coniugato enzimatico ricostituito.
13. Incubare per 45 a 50 minuti a 18°C a 25°C.
14. Durante l'incubazione preparare la soluzione di substrato attiva. Porre una tavoletta di substrato in ciascun flacone necessario di tampone di substrato a 18°C a 25°C (fare riferimento alla tabella). Lasciar trascorrere 30 a 60 minuti per consentire alle tavolette di dissolversi. Agitare accuratamente i flaconi al fine di miscelarli completamente. Utilizzare entro 1 ora.

Fase di lavaggio (3)

15. Capovolgere/svuotare manualmente le strisce. Aggiungere a ciascun pozzetto almeno 300 µL di tampone di lavaggio 1X e capovolgere/ svuotare le strisce. Ripetere la procedura per altre due volte, per un totale di tre lavaggi. Asciugare accuratamente le strisce su carta assorbente dopo l'ultimo lavaggio.

Incubazione del substrato

16. Aggiungere a ciascun pozzetto 100 µL di soluzione attiva di substrato.
17. Incubare per 30 a 35 minuti a 18°C a 25°C. Se non è possibile mantenere la temperatura ambiente fra i 18°C a 25°C e un'assorbanza di > 2,0 non è compatibile con il lettore per piastra, monitorare lo sviluppo del substrato nei pozzetti standard F, bloccare la reazione quando la densità ottica raggiunge 1,2 a 1,5 quindi leggere le strisce.

Arresto/Lettura

18. Aggiungere 50 µL di soluzione bloccante a ciascun pozzetto per arrestare la reazione.
19. Leggere la densità ottica a 405 nm. Garantire che nei pozzetti non sia presente alcuna bolla grande e che le estremità inferiori delle strisce siano pulite. Leggere le strisce entro 15 minuti dall'aggiunta della soluzione bloccante.
20. Usare il software di quantizzazione con equazione di adattamento della curva di calibrazione a quattro parametri (vedere di seguito) per l'analisi dei risultati del saggio MicroVue CICP.

$$\text{Equazione: } y = (A-D)/(1+(x/C)^B)+D$$

21. Determinare la concentrazione dei campioni e dei campioni di controllo dalla curva standard. Diluire i campioni maggiori di 80 ng/ml nel tampone del saggio ed effettuare di nuovo il test. È necessario che i valori del campione di controllo si trovino all'interno della gamma specifica nel certificato di analisi fornito in dotazione con il kit.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il certificato di analisi compreso in questo kit è specifico per il lotto e deve essere usato per verificare che i risultati ottenuti dal laboratorio siano simili a quelli ottenuti da Quidel Corporation.

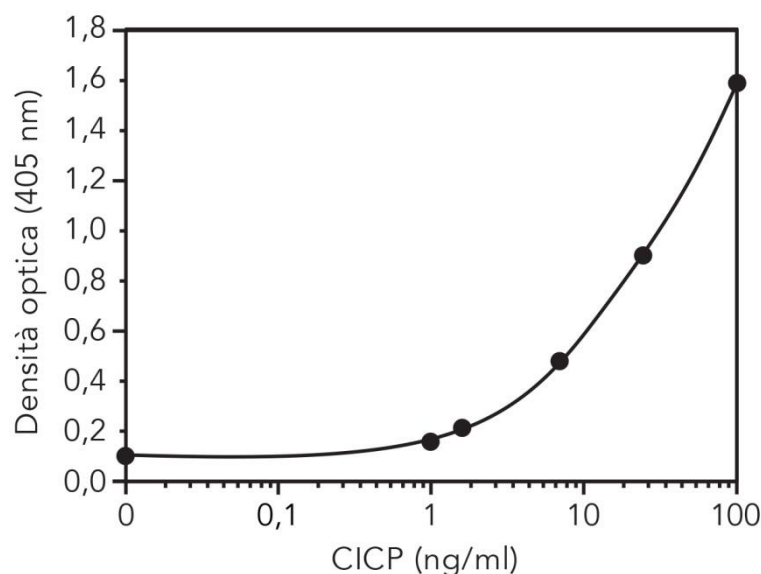
Vengono forniti i valori di gamma per il controllo di qualità. I valori di controllo sono destinati a verificare la validità della curva e i risultati del campione. È necessario che ciascun laboratorio stabilisca i propri parametri per la definizione dei limiti di accettazione del saggio. Se i valori di controllo NON sono all'interno dei limiti di accettazione del laboratorio, i risultati del saggio devono essere considerati discutibili e si dovranno ripetere i campioni.

Se la densità ottica di MicroVue CICP Standard F è inferiore a 0,8, i risultati devono essere considerati discutibili e si dovranno ripetere i campioni.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati dei campioni devono essere corretti in base alla diluizione eseguita. Se il campione è stato diluito in un rapporto 1:12, moltiplicare il valore ng/ml per 12 per il risultato finale di CICP di siero in ng/ml.

Curva standard rappresentativa



VALORI DI ESEMPIO

Nel test condotto su 279 adulti di età superiore ai 25 anni, i valori ottenuti tramite il kit MicroVue CICP erano compresi tra 69 a 163 ng/ml. Nel test condotto su 370 bambini di età compresa tra 4 a 18 anni, i valori CICP ottenuti erano compresi tra 110 a 966 ng/ml, con una media di 326 CICP ng/ml.

I valori possono essere influenzati da fattori quali crescita, bassa produzione di estrogeni, minore assunzione di calcio o scarsa attività fisica. La mancanza di estrogeni in donne in postmenopausa può causare un elevato ricambio osseo, quindi produzione di collagene. È necessario che ciascun laboratorio stabilisca il proprio valore di riferimento.

PRESTAZIONI DEL TEST

Specificità degli anticorpi

Gli anticorpi anti-CICP sono stati ottenuti da un CICP derivato da cellule di fibroblasti umani in coltura. Gli anticorpi dimostrano una reattività crociata del 100% con il CICP nel siero umano.

Limiti del rilevamento

Il limite di rilevamento analitico minimo di MicroVue CICP Assay è di 0,2 ng/ml, determinato dal limite superiore di 3 DS in uno studio standard zero.

Precisione

La precisione all'interno di una stessa corsa e fra le corse è stata determinata valutando tre campioni di siero. I risultati tipici vengono forniti di seguito.

CICP (ng/ml)	All'interno di una stessa corsa ¹ C.V.(%)	Fra le corse ² C.V.(%)
80,8	6,8	7,0
98,1	5,5	7,2

296,7	6,6	5,0
¹ n = 20 ripetizioni	² n = 3 in 3 corse	

Recupero – Linearità

La linearità è stata determinata diluendo in modo seriale i campioni e confrontando i valori osservati con i risultati attesi. I risultati tipici vengono forniti di seguito.

Campione	Fattore di diluizione	Osservato (ng/ml)	Atteso (ng/ml)	Recupero (%)
1	1:12	6,90	–	–
	1:24	3,50	3,45	101
	1:48	1,74	1,72	101
2	1:12	13,26	-	-
	1:24	6,56	6,63	99
	1:48	3,49	3,32	105
3	1:12	20,88	–	–
	1:24	10,43	10,44	100
	1:48	5,57	5,22	107

Recupero – Recupero dei picchi

Il recupero dei picchi è stato determinato aggiungendo quantità note di CICP purificato ai campioni di siero con livelli diversi di CICP endogeno. I risultati tipici vengono forniti di seguito.

Campione	Endogeno (ng/ml)	Aggiunto (ng/ml)	Osservato (ng/ml)	Recupero (%)
1	9,09	13,24	22,28	100
		31,77	45,96	102
2	10,34	13,10	13,00	97
		32,71	43,05	96
3	12,43	13,24	22,28	100
		31,77	41,55	102

ASSISTENZA

Per servizi al di fuori degli Stati Uniti, contattare il distributore locale. Le ulteriori informazioni circa Quidel, i nostri prodotti ed i nostri distributori possono essere trovate sul nostro Web site a quidel.com.

BIBLIOGRAFIA

- Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.
- Melkko J, Niemi S, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxy terminal propeptide of human type I procollagen. *Clin. Chem.* 1990;36:1328-1332.
- Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM. Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone: Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J. Bone. Miner. Res.* 1987;2:427-436.
- Saggese G, Bertelloni S, Baroncelli GI, Di Nero G. Serum levels of carboxy-terminal propeptide of type I procollagen in healthy children from first year of life to adulthood and in metabolic bone diseases. *Eur. J. Pediatr.* 1992;151:764-768.
- Simon LS, Krane SM, Wortman PD, Krane IM, Kovitz KL. Serum levels of type I and III procollagen fragments in Paget's disease of bone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1984;58:110-120.

6. Trivedi P, Risteli J, Risteli L, Hindmarsh PC, Brook CG, Mowat AP. Serum concentrations of type I and III procollagen propeptides as biochemical markers of growth velocity in healthy infants and children and in children with growth disorders. *Pediatr. Res.* 1991;30:276-280.
7. Winterbottom N, Vernon S, Freeman K, Daniloff GY, Garnero P, Seyedin S. A serum immunoassay for the C-terminal propeptide of type I collagen. *J. Bone. Miner. Res.* 1993;8:S341. (abst)

REF 8003 – MicroVue CICP EIA Kit

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PI8003000IT00 (10/17)

GLOSSARIO



Numero di catalogo



Marcio CE di conformità



Rappresentante autorizzato
nella Comunità Europea



Codice lotto



Data di scadenza



Produttore



Limitazione di temperatura



Uso previsto



Leggere le istruzioni e di
etichettatura per l'uso



Per uso diagnostico *In Vitro*



Contenuto sufficiente per 96 determinazioni



Contenuto / Contiene



Controllo

Essai immunoenzymatique portant sur la quantification du propeptide du C-terminal du collagène de type I (CICP) sérique

À des fins de diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à l'export. Non destiné à la vente aux États-Unis ou au Canada.

RÉSUMÉ

Préparation de Réactif et d'Échantillon

- ☐ Diluer Tampon de Lavage 10X 1:10 avec de l'eau désionisée
- ☐ Diluer les échantillons de sérum à 1:12 avec le tampon d'essai
(ex.: 25µl de sérum + 275µl de tampon d'essai)

Procédure de l'Essai

Ajouter **100 µl** d'étalon, de contrôle ou d'échantillon de sérum dilué dans chaque puits des plaques enduites

Incuber pendant **120 minutes ± 5 minutes** entre 18°C à 25°C

Laver à **3 reprises** avec Solution de Lavage

Ajouter **100 µl** d'anti-CICP de lapin dans chaque puits

Incuber pendant **45 à 50 minutes** entre 18°C à 25°C

- ☐ Préparer le conjugué enzymatique à l'aide de 7 ml de tampon de lavage 1X (Regrouper les contenus et mélanger. Utiliser dans les 2 heures)

Laver à **3 reprises** avec Solution de Lavage

Ajouter **100 µl** de conjugué enzymatique reconstitué dans chaque puits

Incuber pendant **45 à 50 minutes** entre 18°C à 25°C

- ☐ Préparer la solution de substrat (30 à 60 minutes avant l'emploi) Placer une pastille de substrat dans chaque flacon de tampon de substrat

Laver à **3 reprises** avec Solution de Lavage

Ajouter **100 µl** de solution de substrat dans chaque puits

Incuber pendant **30 à 35 minutes** entre 18°C à 25°C

Ajouter **50 µl** de solution d'arrêt dans chaque puits

Lire la densité optique à 405 nm. Analysez les résultats d'analyse en utilisant un ajustement de la courbe d'étalonnage à quatre paramètres
 $y = (A-D)/(1+(x/C)^B) + D$

Essai immunoenzymatique portant sur la quantification du propeptide du C-terminal du collagène type I (CICP) sérique.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La molécule de collagène à triple hélice, qui constitue un cadre fibreux regroupant tous les tissus conjonctifs, est synthétisée sous la forme de procollagène, molécule précurseur plus grosse. Le procollagène est composé de collagène mature avec des peptides d'extension au niveau des amino et carboxy-terminaux. Ces peptides d'extension, ou propeptides, sont clivés à partir de la molécule de collagène par des protéases spécifiques avant l'incorporation de collagène dans une fibrille de collagène en développement. La libération de ces peptides dans la circulation sanguine fournit une représentation stœchiométrique de la production de collagène.

L'essai immunoenzymatique MicroVue CICP permet de quantifier le CICP (C-terminal du collagène de type I) dans le sérum. Les niveaux de CICP indiquent la production *in vivo* de collagène. En tant que constituant organique primaire de l'os, les niveaux du collagène de type I ont été liés à la croissance et à la formation osseuse. Des niveaux élevés de CICP ont été observés dans des maladies associées à des niveaux élevés de renouvellement des cellules osseuses, dont la maladie osseuse de Paget, l'hyperthyroïdie, l'hyperparathyroïdie primaire et l'ostéodystrophie rénale. Dans certains cas, des niveaux élevés de CICP ont également été signalés en début de ménopause. Des niveaux faibles de CICP ont été observés chez les enfants présentant un déficit d'hormones de croissance.

PRINCIPE DU PROCÉDÉ

L'essai MicroVue CICP est un essai immunoenzymatique de type sandwich dans une plaque de microtitrage enduite d'un anticorps anti-CICP monoclonal et utilisant un anti-sérum anti-CICP de lapin, un conjugué de phosphatase alcaline anti-lapin de chèvre et un substrat pNPP pour quantifier le CICP dans le sérum humain.

RÉACTIFS ET MATÉRIAUX FOURNIS

96 essais pour le propeptide du C-terminal du collagène de type I sérique

Le kit d'essai immunoenzymatique MicroVue CICP contient les éléments suivants:

A	Étalons CICP	Réf. 4138-4143	0,75 ml chacun
B	Standards A-F, prêts à l'emploi, les concentrations sont indiquées sur la Certificat d'analyse		
C	CICP purifié provenant de fibroblastes humains dans une solution tamponnée contenant du détergent		
D	non ionique, un stabilisant et de l'azide de sodium (0,05%) comme conservateur		
E			
F			
L	Contrôle Bas	Réf. 4144	0,75 ml
	CICP purifié provenant de fibroblastes humains dans une solution tamponnée contenant du détergent non ionique, un stabilisant et de l'azide de sodium (0,05%) comme conservateur		
H	Contrôle Haut	Réf. 4145	0,75 ml
	CICP purifié provenant de fibroblastes humains dans une solution tamponnée contenant du détergent non ionique, un stabilisant et de l'azide de sodium (0,05%) comme conservateur		
①	Plaques enduites	Réf. 4672	12 chacun
	Anticorps anti-CICP monoclonal murin purifié adsorbé dans les puits		
②	Solution d'arrêt	Réf. 4702	15 ml
	0,5 N NaOH		

- | | | |
|----------|--|--|
| 3 | Tampon de lavage 10X
Détergent non ionique dans une solution tamponnée contenant de l'azide de sodium (0,05%) comme conservateur | Réf. 4703

55 ml |
| 4 | Tampon d'essai
Une solution tamponnée contenant du détergent non ionique, un stabilisant et de l'azide de sodium (0,05%) comme conservateur | Réf. 4150

20 ml |
| 5 | Tampon de substrat
Une solution de diéthanolamine et de chlorure de magnésium contenant de l'azide de sodium (0,05%) comme conservateur | Réf. 4705

3 x 10 ml |
| 6 | Substrat en comprimés
phosphate de p-nitrophényl | Réf. 0012

3 x 20 mg |
| 7 | Conjugué enzymatique
Anticorps de chèvre anti-IgG de lapin, lyophilisé, conjugué à de la phosphatase alcaline, contenant des sels de tampon et des stabilisants | Réf. 4149

3 flacons |
| 8 | Anti-CICP de lapin
Anticorps anti-CICP polyclonal de lapin dans une solution tamponnée contenant un détergent non ionique, un stabilisant et de l'azide de sodium (0,05%) comme conservateur | Réf. 4148

14 ml |

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Micropipettes pour distribuer de 25 à 300 µL
- Équipement de laboratoire adapté à la mesure de 7 à 300 ml de liquide
- Tubes pour la dilution des échantillons
- Récipient pour la dilution de tampon de lavage
- Eau déionisée ou distillée
- Lecteur de plaque pouvant lire des mesures à 405 nm
- Logiciel de gestion de la courbe d'étalonnage à 4 paramètres

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Réservé à la recherche uniquement dans É.-U. Ne pas utiliser à des fins diagnostiques (É.-U. uniquement).
- Traiter les échantillons comme des matériaux présentant un risque biologique potentiel. Suivre les précautions standard lors de la manipulation du contenu de ce kit et de tous les échantillons de patients.
- Utiliser les réactifs fournis en une seule livraison avant la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Stocker les réactifs de l'essai selon les indications.
- Ne pas utiliser de plaques enduites si la poche a été percée.
- La solution d'arrêt (0,5 N NaOH) est considérée comme corrosive et peut provoquer une irritation de la peau. Ne pas ingérer. Éviter le contact avec la peau, les yeux ou les vêtements. En cas de contact, laver à l'eau. En cas d'ingestion, appeler un médecin.
- L'azoture de sodium est utilisé comme conservateur. Tout contact ou toute ingestion accidentelle de tampons contenant de l'azide de sodium peut provoquer une irritation de la peau, des yeux ou de la bouche. Utiliser les tampons uniquement à des fins prévues et éviter le contact avec les acides. L'azide de sodium peut réagir avec les conduites en plomb et en cuivre pour former des azides métalliques très explosifs. Lors de la mise au rebut, rincer à grande eau pour éviter une accumulation d'azides.
- Le tampon de substrat contient du 2,2'-iminodiéthanol et peut causer des irritations aux yeux et/ou sur la peau en cas de contact prolongé. Les zones ayant été en contact avec le produit doivent être rincées immédiatement à l'eau et au savon.
- L'utilisation de pipettes multi-canaux ou de robots pipetteurs est recommandée pour assurer la distribution rapide des réactifs.

- Pour une mesure exacte des échantillons, ajouter les échantillons et les étalons avec précision. Pipeter avec soin, en utilisant uniquement un équipement étalonné.
- Il est essentiel de prélever et de conserver les échantillons avec soin pour obtenir des résultats corrects (voir la section *PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS*).
- Éviter toute contamination microbienne ou croisée des échantillons ou des réactifs.
- Tester chaque échantillon en double.
- Ne pas réutiliser un micropuits pour un deuxième test.
- Le non-respect des durées et températures d'incubation indiquées dans la *PROCÉDÉ DE L'ESSAI* est susceptible de provoquer des résultats erronés.
- Ne pas laisser sécher les micropuits quand l'essai est commencé.
- Ne pas gratter ni toucher le fond des puits lors de l'élimination du liquide hors des micropuits.
- Des échantillons inactivés par la chaleur, hyperlipémiques ou contaminés, risquent de faire aboutir à des résultats inexacts.
- Afin d'éviter la production d'aérosols pendant le lavage, utiliser un appareil pour aspirer le liquide de lavage et le déverser directement dans un flacon contenant de l'eau de Javel.
- Cet essai peut être effectué avec n'importe quelle méthode de lavage validée.
- Le test doit être effectué dans une zone suffisamment ventilée.
- Éliminer les contenants et les contenus non utilisés conformément aux exigences fédérales, nationales et réglementations réglementaires locales.
- Porter des gants et des lunettes de protection, et suivre les bonnes pratiques de laboratoire en manipulant cette trousse.
- Lavez-vous soigneusement les mains après manipulation.
- Pour en savoir plus sur les symboles de danger, la sécurité, la manipulation et l'élimination des composants de ce kit, veuillez vous référer à la Fiche de données de sécurité (FDS) que vous trouverez sur quidel.com.

CONSERVATION

Conserver le kit entre 2°C à 8°C. Conserver les réactifs inutilisés entre 2°C à 8°C. Conserver le tampon de lavage 1X (10X dilué) entre 18°C à 28°C.

PRÉPARATION ET PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS

Prélever les échantillons de sérum en utilisant une technique de veinopuncture standard, sans anti-coagulants et d'une manière visant à éviter l'hémolyse. Attendre que le sang coagule et séparer le sérum par centrifugation. Stocker le sérum au réfrigérateur entre (2°C à 8°C) pour une conservation inférieure à 5 jours, ou congelé à -20°C minimum pour une conservation plus longue. Ne pas soumettre l'échantillon plus de 3 fois à des cycles de congélation/décongélation.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

S'assurer que les réactifs sont entre 18°C à 25°C avant utilisation.

Plaques enduites

Sortir le cadre des puits et le nombre de plaques enduites requis de la poche (voir tableau de la section *PROCEDE DE L'ESSAI*). S'assurer que la poche contenant toutes les plaques inutilisées est complètement fermée.

Tampon de lavage

Préparer la quantité de tampon de lavage 1X requise (voir tableau) en diluant le tampon de lavage 10X à 1:10 avec de l'eau déionisée. Stocker entre 18°C à 28°C. Utiliser le tampon de lavage 1X dans les 21 jours suivant sa préparation.

Conjugué enzymatique

Préparer le conjugué enzymatique dans les 2 heures précédant son utilisation. Reconstituer chaque flacon de conjugué enzymatique requis (voir tableau) à l'aide de 7 ml de tampon de lavage 1X. Laisser le pellet se dissoudre complètement. Jeter le restant de conjugué enzymatique après utilisation.

Solution de substrat active

Préparer la solution de substrat 1 heure avant utilisation. Placer une pastille de substrat dans chaque flacon requis de tampon de substrat entre 18°C à 25°C (voir tableau). Laisser la/les pastille(s) se dissoudre pendant 30 à 60 minutes. Secouer le(s) flacon(s) énergiquement pour mélanger complètement. Jeter le reste de la solution de substrat active après utilisation.

PROCÉDÉ DE L'ESSAI

Lire la notice produit dans son intégralité avant de commencer l'essai.

Voir la partie PRÉPARATION DES RÉACTIFS avant de poursuivre.

Déterminer la quantité de chaque réactif nécessaire pour le nombre de plaques à utiliser.

Nombre de plaques	4	6	8	12
Nombre d'échantillons (testés en double)	8	16	24	40
Conjugué enzymatique (flacon)	1	1	2*	2*
Tampon de substrat (flacon)	1	1	2*	2*
Tampon de lavage 1X (ml)	100	150	200	300

*Lorsque plus d'un flacon ou d'une fiole est utilisé, regrouper les contenus et mélanger avant d'utiliser.

Dilution/Incubation de l'échantillon

1. Diluer les échantillons de sérum à 1:12 avec le tampon d'essai (ex.: 25 µL de sérum + 275 µL de tampon d'essai).
2. Laisser la poche de plaques enduites atteindre 18°C à 25°C avant de l'ouvrir. Sortir le cadre des puits et le nombre requis de plaques enduites de la poche (voir tableau). S'assurer que la poche contenant les bandes non utilisées est totalement fermée hermétiquement et contient du dessiccant.
3. Placer le nombre de plaques enduites désiré dans le cadre des puits juste avant utilisation. Libeller les plaques pour éviter de les confondre en cas de retrait accidentel du support des puits.
4. Ajouter 100 µL d'étalon, de contrôle ou d'échantillon de sérum dilué dans chaque puits des plaques enduites. Cette étape doit être réalisée dans les 30 minutes.
5. Incuber pendant 120 minutes ± 5 minutes entre 18°C à 25°C.

Étape de lavage (1)

6. Préparer la quantité de tampon de lavage 1X requise (voir tableau) en diluant du concentré de tampon de lavage 10X à 1:10 avec de l'eau déionisée. Stocker entre 18°C à 28°C Utiliser le tampon de lavage 1X dans les 21 jours suivant sa préparation.
7. Retourner/vider manuellement les plaques. Ajouter au moins 300 µL de tampon de lavage 1X dans chaque puits et retourner/vider manuellement les bandes. Répéter cette opération deux fois de plus pour arriver à un total de trois lavages. Décanter énergiquement les plaques à sec sur des essuie-tout après le dernier lavage.

Incubation de l'anticorps

8. Ajouter 100 µL d'anti-CICP de lapin dans chaque puits.
9. Incuber pendant 45 à 50 minutes entre 18°C à 25°C.
10. Préparer le conjugué enzymatique pendant l'incubation. Reconstituer chaque flacon de conjugué enzymatique requis (voir tableau) à l'aide de 7 ml de tampon de lavage 1X. Bien mélanger. Utiliser dans les 2 heures qui suivent.

Étape de lavage (2)

11. Retourner/vider manuellement les plaques. Ajouter au moins 300 µL de tampon de lavage 1X dans chaque puits et retourner/vider manuellement les bandes. Répéter cette opération deux fois de plus pour arriver à un total de trois lavages. Décanter énergiquement les plaques à sec sur des essuie-tout après le dernier lavage.

Incubation du conjugué enzymatique

12. Ajouter 100 µL de conjugué enzymatique reconstitué dans chaque puits.
13. Incuber pendant 45 à 50 minutes entre 18°C à 25°C.
14. Préparer la solution de substrat pendant l'incubation. Placer une pastille de substrat dans chaque flacon requis de tampon de substrat entre 18°C à 25°C (voir tableau). Laisser la/les pastille(s) se dissoudre pendant 30 à 60 minutes. Secouer le(s) flacon(s) énergiquement pour mélanger complètement. Utiliser dans l'heure qui suit.

Étape de lavage (3)

15. Retourner/vider manuellement les plaques. Ajouter au moins 300 µL de tampon de lavage 1X dans chaque puits et retourner/vider manuellement les bandes. Répéter cette opération deux fois de plus pour arriver à un total de trois lavages. Décanter énergiquement les plaques à sec sur des essuie-tout après le dernier lavage.

Incubation du substrat

16. Ajouter 100 µL de solution de substrat dans chaque puits.
17. Incuber pendant 30 à 35 minutes entre 18°C à 25°C. Si la température de la pièce ne peut être maintenue entre 18°C à 25°C et qu'une absorbance supérieure à 2,0 n'est pas compatible avec votre lecteur de plaque, contrôler le développement du substrat dans les puits Étalon F; interrompre la réaction lorsque la densité optique atteint 1,2 à 1,5 puis lire la/les plaque(s).

Arrêt/Lecture

18. Ajouter 50 µL de solution d'arrêt dans chaque puits pour interrompre la réaction.
19. Lire la densité optique à 405 nm. S'assurer que les puits ne contiennent pas de grosses bulles et que le fond des puits est propre. Lire les plaques dans les 15 minutes suivant l'ajout de solution d'arrêt.
20. Utiliser le logiciel de quantification avec une courbe d'étalonnage à 4 paramètres correspondant à l'équation (voir ci-après) pour analyser les résultats du dosage MicroVue CICP.

$$\text{Équation: } y = (A-D)/(1+(x/C)^B)+D$$

21. Déterminer la concentration des échantillons et des contrôles à partir de la courbe étalon. Diluer les échantillons de plus de 80 ng/ml dans du tampon d'essai et recommencer le dosage. Les valeurs de contrôle doivent s'inscrire dans la plage indiquée dans le Certificat d'analyse fourni avec le kit.

CONTRÔLE QUALITÉ

Le Certificat d'analyse inclus dans ce kit est spécifique au lot et doit être utilisé pour vérifier que les résultats obtenus par votre laboratoire sont similaires à ceux obtenus par Quidel Corporation.

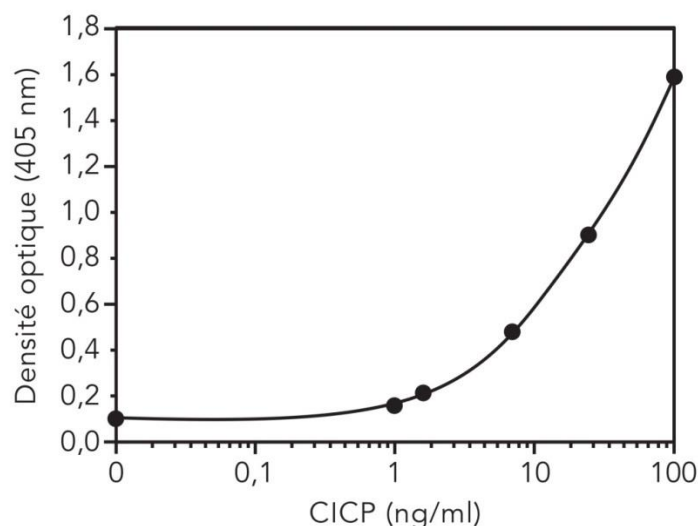
Les plages de contrôle qualité sont fournies. Les valeurs de contrôle sont destinées à vérifier la validité des résultats de la courbe et des échantillons. Chaque laboratoire devrait établir ses propres paramètres en matière de seuils d'essai acceptables. Si les valeurs de contrôle NE s'inscrivent PAS dans les limites acceptables par votre laboratoire, le dosage doit être considéré comme incertain, et les tests doivent être répétés.

Si la densité optique de l'Étalon F MicroVue CICP est inférieure à 0,8, les résultats doivent être considérés comme incertains, et les tests doivent être répétés.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats des échantillons doivent tenir compte de la dilution utilisée. Si l'échantillon a été dilué à 1:12, multiplier la valeur ng/ml par 12 pour obtenir le résultat final de CICP sérique en ng/ml.

Courbe étalon representative



EXEMPLE DE VALEURS

Dans nos tests portant sur 279 adultes de plus de 25 ans, les valeurs obtenues via le kit MicroVue CICP allaient de 69 à 163 ng/ml. Dans nos tests portant sur 370 enfants de 4 à 18 ans, les valeurs de CICP obtenues allaient de 110 à 966 ng/ml, avec une moyenne de 326 ng/ml.

Les valeurs peuvent être affectées par certains facteurs comme la croissance, une faible production d'œstrogènes, un apport limité en calcium ou une activité physique réduite. Le déficit en œstrogènes chez les femmes ménopausées peut entraîner une hausse du renouvellement des cellules osseuses, et donc de la production de collagène. Chaque laboratoire doit établir sa propre plage de référence.

PERFORMANCES DU TEST

Spécificité des anticorps

Les anticorps anti-CICP ont été testés par rapport au CICP provenant de fibroblastes humains en culture. Les anticorps présentent une réactivité croisée de 100% avec le CICP présent dans le sérum humain.

Seuils de détection

Le seuil minimum de détection analytique de l'essai MicroVue CICP est de 0,2 ng/ml, déterminé par le seuil supérieur des trois écarts-types dans une étude à zéro étalon.

Précision

La précision intra-cycle et inter-cycles a été déterminée en testant trois échantillons sériques. Des résultats types sont fournis ci-dessous.

CICP (ng/ml)	Intra-cycle ¹ C.V. (%)	Inter-cycles ² C.V. (%)
80,8	6,8	7,0

98,1	5,5	7,2
296,7	6,6	5,0

¹ n = 20 réplicats ² n = 3 cycles sur 3

Récupération – Linéarité

La linéarité a été déterminée en diluant des échantillons en série et en comparant les valeurs observées avec les valeurs anticipées. Des résultats types sont fournis ci-dessous.

Echantillon	Facteur de dilution	Observé (ng/ml)	Attendu (ng/ml)	Récupération (%)
1	1:12	6,90	–	–
	1:24	3,50	3,45	101
	1:48	1,74	1,72	101
2	1:12	13,26	-	-
	1:24	6,56	6,63	99
	1:48	3,49	3,32	105
3	1:12	20,88	–	–
	1:24	10,43	10,44	100
	1:48	5,57	5,22	107

Récupération – Récupération maximale

La récupération maximale a été déterminée par l'ajout de quantités connues de CICP purifié aux échantillons de sérum, à différents niveaux de CICP endogène; les résultats type figurent ci-après.

Echantillon	Endogène (ng/ml)	Ajouté (ng/ml)	Observé (ng/ml)	Récupération (%)
1	9,09	13,24	22,28	100
		31,77	45,96	102
2	10,34	13,10	13,00	97
		32,71	43,05	96
3	12,43	13,24	22,28	100
		31,77	41,55	102

ASSISTANCE

Pour des services en dehors des États-Unis, veuillez contacter votre distributeur local. Vous trouverez les informations sur Quidel, ses produits et ses distributeurs sur le site quidel.com.

RÉFÉRENCES

- Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.
- Melkko J, Niemi S, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxy terminal propeptide of human type I procollagen. *Clin. Chem.* 1990;36:1328-1332.
- Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM. Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone: Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J. Bone. Miner. Res.* 1987;2:427-436.
- Saggese G, Bertelloni S, Baroncelli GI, Di Nero G. Serum levels of carboxy-terminal propeptide of type I procollagen in healthy children from first year of life to adulthood and in metabolic bone diseases. *Eur. J. Pediatr.* 1992;151:764-768.
- Simon LS, Krane SM, Wortman PD, Krane IM, Kovitz KL. Serum levels of type I and III procollagen fragments in Paget's disease of bone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1984;58:110-120.

6. Trivedi P, Risteli J, Risteli L, Hindmarsh PC, Brook CG, Mowat AP. Serum concentrations of type I and III procollagen propeptides as biochemical markers of growth velocity in healthy infants and children and in children with growth disorders. *Pediatr. Res.* 1991;30:276-280.
7. Winterbottom N, Vernon S, Freeman K, Daniloff GY, Garnero P, Seyedin S. A serum immunoassay for the C-terminal propeptide of type I collagen. *J. Bone. Miner. Res.* 1993;8:S341. (abst)

REF 8003 – MicroVue CICP EIA Kit

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PI8003000FR00 (10/17)

GLOSSAIRE

REF

Référence catalogue



Conformité Européenne

EC REP

Représentant autorisé dans
la Communauté Européenne

LOT

Référence du lot



Date d'expiration



Fabricant



Conditions de stockage



Utilisation prévue



Consulter les instructions
électroniques

IVD

Pour utilisation *in vitro*



Contenu suffisant pour 96 déterminations

CONT

Contenu

CONTROL

Contrôle