

AIDIAN

UniQ[®] ICTP RIA

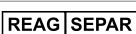
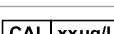
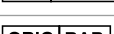
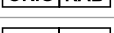
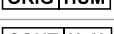
C-terminal telopeptide of type 1 collagen,
radioimmunoassay

Cat. No. 68601



132033-21

**Explanation of symbols • Erläuterung der Symbole • Explication des symboles
Verklaring van symbolen • Explicación de los símbolos**

	English	German	Français	Nederlands	Español	
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device	<i>In-vitro</i> Diagnostikum	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	Alleen voor <i>in vitro</i> diagnostisch gebruik	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	
	Catalogue number	Artikelnummer	Référence	Catalogus nummer	Número de catálogo	
	Batch code	Chargen-bezeichnung	Lot	Batch code	Número de lote	
	Use by	Verwendbar bis	Utiliser jusqu'au	Gebruik door	Fecha de caducidad	
	Temperature limit	Temperaturbegrenzung	Limites de température	Temperatuurlimiet	Limitación de temperatura	
	Consult instructions for use	Nachschlagen in der Bedienungsanleitung	Consulter la notice d'utilisation	Raadpleeg gebruiksinstructie	Consulte las instrucciones de uso	
	Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Producent	Fabricante	
	Sufficient for	Ausreichend für	Suffisant pour	Voldoende voor	Válido para	
	Tracer	Tracer	Traceur	Tracer	Trazador	
	Antiserum	Antiserum	Antiserum	Antiserum	Antisuero	
	Separation Reagent	Trennreagenz	Réactif de séparation	Scheidingsreagens	Reactivo de separación	
	Control	Kontrolle	Contrôle	Controle	Control	
	Calibrator concentration	Kalibrator-konzentration	Concentration de l'étalon	Kalibrator concentratie	Concentración del calibrador	
	Origin: rabbit	Ursprung: Kaninchen	Origine: lapin	Oorsprong: konijn	Origen: conejo	
	Origin: human	Ursprung: menschlich	Origine: humaine	Oorsprong: humane	Origen: humano	
	Contains sodium azide	Enthält Natriumazid	Contient de l'azide de sodium	Bevat natrium azide	Contiene azida sódica	
	Authorised representative in Switzerland	Autorisierter Vertreter in der Schweiz	Représentant autorisé en Suisse	Gemachtigde vertegenwoordiger in Zwitserland	Representante autorizado en Suiza	

**Spiegazione dei simboli • Vysvětlení použitých symbolů • Objaśnienie symboli na etykietach
Förklaring av symboler • Forklaring av symboler • Forklaring af symboler som anvendes på etiketterne**

Italiano	Česky	Polski	Svenska	Norsk	Dansk
Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>	Wyrób medyczny do diagnozy <i>in vitro</i>	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in vitro</i> -diagnostik	Medisinsk utstyr for <i>in vitro</i> - diagnostikk	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> diagnostik
Numero di catalogo	Katalogové číslo	Numer w katalogu	Artikelnummer	Varenummer	Varenummer
Lotto di produzione	Číslo šarže	Numer serii	Batch nr	Batch nr.	Lot nr.
Utilizzare entro	Spotřebujte do	Użyć przed	Används före	Brukes innen	Anvendes inden
Limiti di temperatura	Teplotní omezení	Zakres temperatur	Temperatur- begränsning	Temperatur- begrænsning	Temperatur- begrænsning
Consultare le istruzioni d'uso	Viz návod k použití	Przed użyciem zapoznać się z instrukcją	Se användar- manual	Se bruks- anvisning	Se brugs- anvisningen
Produttore	Výrobce	Producent	Tillverkare	Produsent	Producent
Sufficiente per	Vhodné pro	Wystarczający na	Räcker till	Tilstrekkelig for	Tilstrækkeligt til
Tracciante	Radioindikátor	Znacznik	Tracer	Tracer	Tracer
Antisiero	Antisérum	Przeciwciało	Antiserum	Antiserum	Antiserum
Reattivo di separazione	Separální reagencie	Odzynniki separujące	Separations- reagens	Separasjons- reagens	Separations- reagens
Controllo	Kontrola	Kontrol	Kontroll	Kontrol	Kontrol
Concentrazione del calibratore	Koncentrace kalibrátoru	Stężenie wzorca	Kalibrator koncentration	Kalibrator konsentrasjon	Kalibrator koncentration
Origin: coniglio	Původ: králíčí	Substancja pochodzenia króliczego	Ursprung: kanin	Opprinnelse: kanin	Origin: kanin
Origin: humane	Původ: lidský	Substancja pochodzenia ludzkiego	Ursprung: human	Opprinnelse: human	Origin: human
Contiene sodio azide	Obsahuje azid sodný	Zawiera azydek sodu	Innehåller natriumazid	Inneholder natriumazid	Indeholder natriumazid
Rappresentante autorizzato in Svizzera	Autorizovaný zástupce ve Švýcarsku	Autoryzowany zastępiciel w Szwajcarii	Auktoriserad representant i Schweiz	Autorisert representant i Sveits	Autoriseret repræsentant i Schweiz

UniQ® ICTP RIA

C-terminal telopeptide of type I collagen, radioimmunoassay
Cat. No. 68601

Instructions for use	6
Gebrauchsinformation	14
Notice d'utilisation.....	24
Gebruikers instructie.....	34
Instrucciones de uso.....	42
Istruzioni per l'uso	52
Návod k použití.....	60
Instrukcja.....	68
Bruksanvisning, svenska.....	76
Bruksanvisting, norsk.....	84
Brugsvejledning, dansk	92
Literature • Literatur • Bibliographie Bibliografia • Literatura • Litteratur	100

UniQ® ICTP RIA

C-terminal telopeptide of type I collagen, radioimmunoassay

1. INTENDED USE

UniQ ICTP RIA is a quantitative radioimmunoassay designed for measurement of the concentration of carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen in human serum. **For *in vitro* diagnostic use.**

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Type I collagen is the most abundant collagen type in the body and the only collagen type found in mineralised bone, where it accounts for more than 90 % of the organic matrix. In addition, type I collagen is found in loose connective tissues together with other collagen types such as types III, V and VI. However, type I collagen is the most prevalent type in these tissues.

Type I collagen in tissues is present in fibres, the structure of which shows some variation according to tissue. In bone, type I collagen molecules are cross-linked via three residues of hydroxylysine, lysine or their derivatives which form a fluorescent, cyclic pyridinoline-structure and non-fluorescent unknown structures linking three different collagen polypeptide chains together. In loose connective tissues, such as skin, the major mature cross-link of type I collagen is non-fluorescent and contains histidine as one of the amino acid residues.

ICTP is the carboxyterminal telopeptide region of type I collagen, joined via trivalent cross-links and liberated during the degradation of mature type I collagen. This peptide is found in an immunochemically intact form in blood, where it seems to be derived from bone resorption and degradation of loose connective tissues. It has been shown that the ICTP antigen is produced through the action of matrix metalloproteinases, which are enzymes involved in tissue destruction in various pathological conditions.

Increased serum concentrations of ICTP are hence seen in conditions associated with increased lysis of bone, such as multiple myeloma, osteolytic metastases, rheumatoid arthritis and immobilisation. As ICTP is not produced through physiological Cathepsin-K-mediated bone resorption, its concentration is less affected by conditions such as menopause.

3. PRINCIPLES OF THE TEST

UniQ ICTP RIA kit is based on the competitive radioimmunoassay technique. A known amount of labelled ICTP and an unknown amount of unlabelled ICTP in the sample compete for a limited number of high-affinity binding sites on the antibody. After separating the free antigen, the amount of labelled ICTP in the sample tube is inversely proportional to the amount of ICTP in the sample. The concentrations in unknown samples are obtained from a calibration curve.

4. REAGENTS

UniQ® ICTP RIA, Cat. No. 68601

Component name and origin	Symbol	 100	Stability at 2...8°C	
			Unopened	Opened
Tracer	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioactivity < 200 kBq	Until the expiration date marked on the label	6 weeks
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	Until the expiration date marked on the label	6 weeks
Calibrator	CAL xxµg/l	7 x 0.75 ml	Until the expiration date marked on the label	6 weeks
Control ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Until the expiration date marked on the label	1 week after reconstitution.
ICTP RIA Separation Reagent	REAG SEPAR	60 ml	Until the expiration date marked on the label	6 weeks
Instructions for use				

Reagents contain sodium azide as a preservative. See section 5 "Warnings and precautions".

Reagent preparation

The controls are lyophilized. All other reagents are ready to use.

Allow the **control** vials to reach room temperature (18...25°C) before opening. Reconstitute the controls by adding 1.0 ml distilled or deionised water to each vial. Cap and mix well by gentle swirling or inverting to avoid foaming. Allow to stand for 30 minutes before use.

Reagent deterioration

Alterations in the physical appearance of the reagents or in the slope of the calibrator curve, or values of control sera outside the manufacturer's acceptable range may be an indication of reagent instability. Do not use reagents if you suspect reagent deterioration.

5. WARNINGS AND PRECAUTIONS

Health and safety information

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Do not pipette by mouth.
- All patient samples and controls should be handled as potentially infectious material.
- The controls contain material of human origin, which has been tested and found negative for human immunodeficiency virus antibodies (HIV 1 and 2), hepatitis C virus (HCV) and hepatitis B surface antigen (HBsAg). As a

precaution, handle the controls as if capable of transmitting infectious agents.

- Lyophilised reagents contain < 1% sodium azide (Aquatic Chronic 3). Harmful to aquatic life with long lasting effects (H412). Contact with acids liberates very toxic gas (EUH032). Avoid release to the environment (P273). Dispose of contents according to national and local law (P501). Azides may react with metal plumbing, forming explosive compounds. Azide build-up can be avoided by flushing with a large volume of water when disposing of the reagents.
- Reconstituted and liquid reagents contain < 0.1% sodium azide, which is not considered a harmful concentration.
- The kit contains ^{125}I (half-life $t_{1/2}$ of 60 days) emitting 35.5 keV gamma rays and 27–32 keV X-rays. Radioactive material contained in this kit may be received, acquired, possessed and used only by physicians, clinical laboratories, research institutions or hospitals and used only for *in vitro* clinical or laboratory tests not involving internal or external administration of the material, or the radiation therefrom to human beings or animals. All radioactive materials should be stored and handled only in specifically designated areas. The purchase, storage, use or exchange of radioactive products is subject to the laws in force in the user's country.
- Avoid contact with skin and eyes. After contact with skin, wash immediately with plenty of water and decontaminate, following your institution's guidelines for accidental spills.
- Spills of radioactive materials should be cleaned immediately with a detergent and the contaminated cleaning materials transferred to the radioactive waste container or handled according to the recommendations of the radiation safety office.
- Refer to the radiation regulations and procedures applicable to your institution for handling, storage and disposal of radioactive materials.

Analytical precautions

- Do not use the product after the expiry date marked on the outer package.
- Do not exceed the stability periods for opened reagents.
- Do not mix components from different lot numbers or different tests.

6. SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

No special preparation of the patient is required prior to sample taking.

Serum should be used and a normal venous blood sample should be collected using an acceptable medical technique, following the normal precautions for venipuncture. The assay is not to be used with plasma samples.

Highly lipemic, hemolyzed or microbiologically contaminated patient samples should be avoided.

Sample handling and storage

After the specimen collection, allow the blood to clot and separate serum by centrifugation. Serum samples may be stored for up to 5 days at 2...8°C. For longer periods, store the samples at –20°C or colder. Repeated freezing and thawing should be avoided.

Samples with high ICTP concentrations may be diluted using 0.9 % saline.

7. PROCEDURE

See the section 4. "Reagents", for a list of reagents.

Materials required but not provided

- Pipettes (100 µl, 200 µl, 500 µl and 1000 µl)
- Test tubes (polystyrene)
- Absorbent paper
- Paraffin film
- Vortex Mixer
- Water bath (capable of maintaining $37 \pm 1^\circ\text{C}$)
- Decanting rack
- Centrifuge (capable of at least 2000 g)
- Gamma counter
- Distilled water

Instruments

Any gamma counter capable of measuring ^{125}I may be used. The counting efficiency of the instrument should be regularly checked as well as the background counts. It is recommended that the instrument be calibrated systematically. Consult the operations manual supplied by the instrument manufacturer for details of installation, use, maintenance and calibration.

Details of the procedure

1	Bring all reagents, controls and samples to room temperature ($18...25^\circ\text{C}$) at least 30 minutes before use.
2	Label test tubes in duplicate for NSB (non-specific binding), calibrators, controls, patient samples and totals.
3	Pipette 100 µl of calibrator, control or patient sample into the appropriate tubes. Any patient sample may be pipetted into the NSB tubes.
4	Pipette 200 µl of tracer (red) into all tubes.
5	Pipette 200 µl of antiserum (blue) into all tubes except NSB and totals. Pipette 200 µl of distilled water into the NSB tubes.
6	Mix all tubes using a vortex mixer, cover with paraffin film and incubate for 2 hours at $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
7	Mix the separation reagent thoroughly by gentle inversion and add 500 µl to all tubes except totals.
8	Mix the tubes using a vortex mixer and incubate for 30 minutes at $18...25^\circ\text{C}$.
9	Centrifuge all tubes except totals for 30 minutes at 2000 g (minimum) at $4...20^\circ\text{C}$ (4°C is recommended).
10	Decant the supernatants from all tubes except the totals by simultaneous inversion. Gently blot the tubes against absorbent material and allow to drain for a few seconds to remove any remaining liquid. Care should be taken not to decant any of the precipitate. Do not reinvert the tubes once they have been turned upright. Failure to decant and blot tubes may result in poor replication and erroneous values.
11	Count each tube using a gamma counter for at least 1 minute or until 10 000 counts per tube have accumulated.
12	Calculate the results as described in the "Results' interpretation" section.

Assay procedure – summary

(all values given in µl)

	Total	NSB	Calibrator	Control & unknown
Pipette sample		100	100	100
Pipette tracer (red)	200	200	200	200
Pipette antiserum (blue)			200	200
Pipette distilled water		200		
Mix		x	x	x
Incubate 2h (37°C)		x	x	x
Pipette separation reagent		500	500	500
Mix		x	x	x
Incubate for 30 min at 18...25°C		x	x	x
Centrifuge for 30 min at 2000 g		x	x	x
Decant		x	x	x
Count 1 min. or 10 000 counts	x	x	x	x

8. QUALITY CONTROL

An internal quality assurance programme is recommended for all clinical laboratories. For this reason, it is suggested that control sera in both the lower and upper portions of the calibration curve be analysed to enable the performance of the procedure to be monitored. The UniQ ICTP RIA assay provides two control materials: ICTP RIA Control 1 & 2. The expected ranges of the controls are indicated on a separate sheet provided with the assay. It is recommended that each laboratory establish its own acceptable ranges for the controls it uses. The mean of the control should fall within the acceptable range stated by Aidian. It is advised to use at least two separate kit lot numbers for the control value assignment. Once the control ranges have been established, controls should be run in duplicate with each assay.

9. RESULTS' INTERPRETATION

For automatic result processing, spline function curve fitting is recommended. Results can also be produced manually on semi-log graph paper.

- **Calculate** the mean count for all calibrators, samples and controls.
- **Calculate** the %B/B₀ from:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{calibrator or sample count} - \text{NSB}}{\text{calibrator 0 count} - \text{NSB}} \times 100$$

where B is the bound radioactivity of a sample or calibrator, B₀ is the bound radioactivity of the calibrator 0 and NSB is the radioactivity of the non-specific binding.

- **Draw** a calibration curve on semi-log graph paper with %B/B₀ values on the ordinate (Y axis) and ICTP concentrations (µg/l) of the calibrators on the abscissa (X axis).
- **Determine** the ICTP concentrations of the unknowns from the calibration curve.
- **Any sample reading lower than the lowest calibrator should be reported as such.**

- Any sample reading higher than the highest calibrator should be diluted and re-assayed. After dilution, values must be corrected for the dilution factor.

Fig. 1 Typical calibration curve

This calibration curve is for illustration only.

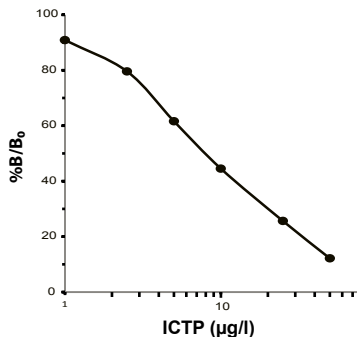


Table 1 Calculation of results using typical data.

This data is for illustration only and must not be used for the calculation of any sample result.

Tube	mean cpm	cpm-NSB	%B/B ₀	ICTP (µg/l)
Total	39445			
NSB	1397			
Cal 0	17333	15936		
Cal 1.0	15875	14478	90.9	
Cal 2.5	14078	12681	79.6	
Cal 5.0	11215	9818	61.6	
Cal 10	8489	7092	44.5	
Cal 25	5482	4085	25.6	
Cal 50	3334	1937	12.2	
Unkn	9494	8097	50.8	7.6
Unkn	6046	4649	29.2	20.9

10. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

There is a diurnal variation of ICTP the values being higher at night. Renal insufficiency, glomerular filtration rate of 50 ml/min/1.73 m² or less leads to elevated ICTP concentrations in blood. The liver does not seem to be involved in the metabolism of the serum ICTP antigen.

As a basis for diagnostic and therapeutic decisions the results of any single diagnostic test must be backed up with other clinically relevant data.

11. EXPECTED VALUES

Due to ethnic, dietary and age variations, the reference limits given may not apply to all populations. Therefore, each laboratory should establish its own representative reference limits.

ICTP values of apparently healthy adults (19–74 years) were measured with the ICTP RIA kit. The non-parametric method recommended by IFCC was used to calculate the reference intervals for the upper and lower limits.

Table 2 Serum ICTP reference limits

	Female	Male
Number of subjects	146	125
Mean	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Reference interval*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
0.90-confidence intervals for lower reference limit	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
for upper reference limit	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

*Reference interval = 0.025 & 0.975 fractiles

ICTP values for children were derived from a population of healthy children aged 0 months to 18 years (unpublished data). The values are indicative only.

Table 3 Typical serum ICTP values for children

Age groups		Lower limit (µg/l)	Mean (µg/l)	Upper limit (µg/l)
Boys and girls	0–3 months	51	61	71
	3–6 months	23	32	40
	6–12 months	15	22	30
	1–2 years	12	16	20
	2–9 years	7	11	16
Boys	9–13 years	8	11	15
	13–16 years	10	16	23
	16–18 years	8	9	11
Girls	9–11 years	9	12	15
	11–14 years	10	13	16
	14–16 years	6	10	14
	16–18 years	4	5	7

12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The results presented below were obtained at Aidian and represent typical performance data.

Measurement range

1.0–50 µg/l.

Limit of detection

Better than 0.6 µg/l.

Limit of quantitation

Approximately 1.8 µg/l.

Linearity

Five high concentration serum samples were serially diluted with five low concentration serum samples. Mean recovery of the samples was 102 %.

Recovery

Known amounts of ICTP were added to three low concentration patient serum samples. Mean recovery was 109 %.

Precision

Intra- and inter-assay variations were determined using serum pools containing different concentrations of ICTP.

Table 4 Intra-assay / Inter-assay precision

Intra-assay precision of 20 replicates			Inter-assay precision of 10 duplicate determinations		
Sample	Mean (µg/l)	CV (%)	Sample	Mean (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Interfering substances

Serum bilirubin concentration < 400 µmol/l does not interfere. Serum haemoglobin concentration up to 5 g/l does not interfere. Triglycerides < 5 g/l do not interfere.

Specificity

The antigenic determinant of the antibody is within the two hydrophobic phenylalanine-rich sequences of the tri-valently cross-linked ICTP. A trivalent cross-link is necessary because the divalently cross-linked and monomeric peptides containing only one phenylalanine-rich sequence show poor immunoreaction. The ICTP RIA antiserum does not cross-react with antigens used in other UniQ Collagen assays.

13. TRACEABILITY

The measurand (analyte) in the UniQ ICTP RIA Calibrators is traceable to the manufacturer's working calibrators which are prepared from highly purified ICTP whose value is assigned using amino acid composition analysis.

14. DISPOSAL

- Dispose of contents according to national and local law.
- All patient samples and controls should be handled and disposed of as potentially infectious material.
- Radioactive waste material must be discarded according to the applicable laws.
- Materials of the components:
 - Paper: Instructions for use
 - Cardboard: Kit box
 - Plastic: Separation reagent bottle, vial caps
 - Rubber: Stoppers
 - Glass: Tracer, antiserum, calibrator, control vials
 - Foam rubber
- When used in accordance with Good Laboratory Practice, good occupational hygiene and the instructions for use, the reagents supplied should not present a hazard to health.

UniQ® ICTP RIA

C-terminales Telozeptid von Typ I Kollagen, Radioimmunoassay Kit

1. VERWENDUNGSZWECK

UniQ ICTP RIA ist ein quantitativer Radioimmunoassay zur Bestimmung der Konzentration des carboxyterminalen Telozeptids von Typ I Kollagen in Humanserum. **Für *in-vitro* Diagnostik.**

2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Typ I Kollagen ist das wichtigste Kollagen des Körpers. Es ist das einzige Kollagen des mineralisierten Knochens, wo es mehr als 90% der organischen Matrix bildet. Außerdem kommt Typ I Kollagen zusammen mit anderen Kollagenarten, wie Typ III, V und VI, im extra ossären Bindegewebe vor, wo es aber ebenfalls den größten Anteil ausmacht. Im Gewebe bildet Typ I Kollagen Fasern, deren Struktur je nach Gewebe gewisse Schwankungen aufweist. Im Knochen sind die Typ I Kollagen-Moleküle über drei Hydroxylysin-Metabolite, Lysin oder seine Derivate quervernetzt. Sie bilden eine fluoreszierende, zyklische Pyridinolinstruktur und nicht-fluoreszierende, nicht näher bekannte Strukturen. Im extra ossären Bindegewebe, wie das der Haut, ist die wichtigste Quervernetzung von Typ I Kollagen nicht-fluoreszierend und enthält u.a. die Aminosäure Histidin.

ICTP bildet die carboxyterminale Telozeptidregion des Typ I Kollagens und wird als trivalent quervernetztes Peptid beim Abbau von Typ I Kollagen freigesetzt. Dieses Peptid kommt wahrscheinlich in Folge einer Knochenresorption und einem Abbau des extra ossären Bindegewebes immunochemisch intakt im Blut vor. In letzter Zeit konnte der Nachweis erbracht werden, demzufolge das ICTP-Antigen durch die Wirkung von beispielsweise Metallproteinasen der Matrix erzeugt wird, d.h. von Enzymen, die an einem mit verschiedenen krankhaften Prozessen verbundenen Gewebestod beteiligt sind.

Erhöhte ICTP-Spiegel im Serum werden daher in Krankheiten und Situationen gefunden, die von einem erhöhten Knochenabbau begleitet sind, wie beim multiplen Myelom, bei Knochenmetastasen, rheumatoider Arthritis und beispielsweise bei bettlägerigen Patienten. Da kein ICTP beim physiologischen, von Kathepsin-K gesteuerten Knochenabbau gebildet wird, ist seine Konzentration während beispielsweise der Menopause nur geringfügig verändert.

3. TESTPRINZIP

UniQ ICTP RIA ist ein kompetitiver Radioimmunoassay. Eine bekannte Menge an radioaktiv markiertem ICTP konkurriert mit einer unbekannten Menge an nicht-markiertem ICTP in der Probe um die in limitierter Menge vorhandenen, hochaffinen Bindungsstellen der Antikörper. Nachdem nicht gebundenes Antigen ausgewaschen wurde, ist die Menge an radioaktiv markiertem ICTP im Röhrchen umgekehrt proportional zur Menge an ICTP in der Probe. Die ICTP-Konzentration in der Probe wird anhand einer Kalibrationskurve ermittelt.

4. REAGENZIEN

UniQ® ICTP RIA, Kat. Nr. 68601

Name und Origin des Kit-Komponents	Symbol	 100	Stabilität bei 2...8°C	
			Ungeöffnet	Geöffnet
Tracer	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktivität < 200 kBq.	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	6 Wochen
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	6 Wochen
Kalibrator	CAL xx µg/l	7 x 0.75 ml	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	6 Wochen
Kontrolle ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	1 Woche nach Rekonstitution
ICTP RIA Trennreagenz	REAG SEPAR	60 ml	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	6 Wochen
Gebrauchsinformation				

Die Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel: Siehe Abschnitt 5 "Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen".

Aufbereitung der Reagenzien

Die Kontrollen sind lyophilisiert. Alle andere Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Beide Kontrollfläschchen vor dem Öffnen auf Raumtemperatur (18...25°C) bringen. Inhalt in jedem Fläschchen mit 1,0 ml destilliertem oder entionisiertem Wasser rekonstituieren. Fläschchen zustöpseln und Inhalt sorgfältig mischen (schwenken oder kippen). Schaumbildung vermeiden. Vor Gebrauch 30 Minuten stehen lassen.

Verfall der Reagenzien

Veränderungen im Aussehen der Reagenzien oder in der Neigung der Standardkurve bzw. Werte der Kontrollseren außerhalb der vom Hersteller angegebenen Bereiche können Hinweise auf eine Beeinträchtigung der Reagenzien sein. Reagenzien mit möglichen Verfallserscheinungen sollten nicht benutzt werden.

5. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Gesundheits- und Sicherheitsinformationen

- Nur zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Alle Patientenproben und Kontrollen sollten als potenziell infektiöses Material behandelt werden.

- Die Kontrollen enthalten Material menschlichen Ursprungs, das in Bezug auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das humane Immundefizienz-Virus (HIV 1 und 2), das Hepatitis C Virus (HCV) und das Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) getestet und als negativ bestätigt wurde. Als Vorsichtsmaßnahme das Produkt wie potentiell infektiöses Material handhaben.
- Lyophilisierte Reagenzien enthalten Natriumazid in einer Konzentration von < 1 % (Aqu. Chron. 3). Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung (H412). Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase (EUH032). Freisetzung in die Umwelt vermeiden (P273). Inhalt entsprechend nationalem und lokalem Recht zuführen (P501). Azide können mit Metallrohren reagieren, indem sie explosive Stoffe bilden. Die Bildung von Aziden kann vermieden werden, indem mit großen Mengen Wasser nach Wegschütten des Reagenzes gespült wird.
- Rekonstituierte und flüssige Reagenzien enthalten Natriumazid in Konzentrationen < 0,1 %, die nicht als gesundheitsgefährdend eingestuft sind.
- Das Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit T_{1/2} von 60 Tagen), das 35,5 keV Gammastrahlung und 27–32 keV Röntgenstrahlung aussendet. In diesem Kit enthaltenes radioaktives Material darf ausschließlich von Ärzten, klinischen Labors, Forschungsinstituten oder Krankenhäusern in Empfang genommen, erworben, in Besitz genommen und ausschließlich für In-vitro- oder klinische oder Labortests verwendet werden, die keine innere oder äußerliche Verabreichung des Materials, oder der davon ausgehenden Strahlung am Menschen oder an Tieren beinhaltet. Sämtliche radioaktiven Materialien sollten ausschließlich in speziell dafür vorgesehenen Bereichen gelagert und gehandhabt werden. Der Erwerb, die Lagerung, die Verwendung oder der Austausch radioaktiver Produkte unterliegt den im Land des Anwenders geltenden Gesetzen.
- Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Nach Hautkontakt bitte sofort mit viel Wasser waschen und dekontaminieren Sie die betroffenen Flächen. Folgen Sie dabei den Richtlinien Ihrer Institution betreffend einer versehentlichen Freisetzung.
- Verschüttungen von radioaktivem Material sollten umgehend mit einem Reinigungsmittel entfernt werden und das kontaminierte Reinigungsmaterial sollte dem Behälter für radioaktive Abfälle zugeführt oder gemäß den Empfehlungen des Amts für Strahlenschutz gehandhabt werden.
- Radioaktive Abfälle müssen in Übereinstimmung mit den geltenden Gesetzen entsorgt werden. Befolgen Sie die Strahlenschutzbestimmungen und -verfahren Ihrer Einrichtung in Bezug auf die Handhabung, Lagerung und Entsorgung von radioaktivem Material.

Analytische Vorsichtsmaßnahmen

- Das Produkt nicht nach dem Verfallsdatum auf der äußeren Verpackung verwenden.
- Die Stabilitätszeit für geöffnete Reagenzien nicht überschreiten.
- Keine Komponenten unterschiedlicher Chargennummern oder verschiedener Tests verwenden.

6. PROBENGEWINNUNG UND VORBEREITUNG

Zur Probenentnahme sind keine besonderen Vorbereitungen seitens des Patienten erforderlich. Der Test sollte mit Serum aus einer venösen Blutprobe durchgeführt werden. Bei der Venenpunktion sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Der Test sollte nicht mit Plasma durchgeführt werden. Stark lipämische, hämolytische oder mikrobiell kontaminierte Seren sollten nicht getestet werden.

Probenaufbereitung und Lagerung

Nach der Probenentnahme das Blut gerinnen lassen und dann das Serum durch Zentrifugieren abtrennen. Die Serumproben können bis 5 Tage bei 2...8°C und länger bei mindestens –20°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren oder Auftauen ist zu vermeiden. Proben mit hohen ICTP-Konzentrationen können mit 0,9 % Kochsalzlösung verdünnt werden.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Siehe den Abschnitt 4 "Reagenzien" für eine Liste der Reagenzien.

Erforderliches, aber nicht geliefertes Material

- Pipetten (100 µl, 200 µl, 500 µl and 1000 µl)
- Reagenzgläser (Polystyrene)
- Saugfähiges Papier
- Parafilm
- Vortex Mixer
- Wasserbad (für eine konstante Temperatur von $37 \pm 1^\circ\text{C}$)
- Ständer zum Dekantieren
- Zentrifuge (für mindestens 2000xg)
- Gamma counter
- Aqua dest.

Geräte

Jeder für die Messung von ¹²⁵I geeignete Gammacounter kann benutzt werden. Der Wirkungsgrad des Geräts wie der Background sollten regelmäßig überprüft werden. Es empfiehlt sich, das Gerät systematisch zu kalibrieren. Hinweise zur Installation, Bedienung, Wartung und Kalibrierung entnehmen Sie bitte dem Bedienerhandbuch des Herstellers.

Einzelheiten der Testdurchführung

1	Alle Reagenzien, Proben und Kontrollen mindestens 30 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18...25°C) bringen.
2	Röhrchen für die Doppelbestimmung der NSB (unspezifischen Bindung), Kalibratoren, Kontrollen, Patientenproben und Totalaktivität beschriften.
3	Von den Kalibratoren, Kontrollen und Patientenproben jeweils 100 µl in die entsprechenden Röhrchen pipettieren. Eine beliebige Patientenprobe in die NSB-Röhrchen pipettieren.
4	Jedem Röhrchen 200 µl ICTP-Tracer (rot) hinzufügen.
5	Jedem Röhrchen, außer den Röhrchen für NSB und Totalaktivität, 200 µl Antiserum (blau) hinzufügen. In jedes NSB-Röhrchen 200 µl Aqua dest. geben.
6	Jedes Röhrchen kurz durchmischen, mit Parafilm® verschließen und für 2 Std. in einem Wasserbad bei $37 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubieren.
7	Das Trennreagenz sorgfältig mischen und davon 500 µl in jedes Röhrchen (außer den Röhrchen für die Totalaktivität) geben.
8	Jedes Röhrchen kurz durchmischen und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
9	Mit Ausnahme der Röhrchen für die Totalaktivität jedes Röhrchen für 30 Minuten bei mindestens 2000 x g und 4...20°C (4°C wird empfohlen) zentrifugieren.

10	Den Überstand in den Röhrchen gleichzeitig dekantieren (auskippen; ausgenommen der Röhrchen für die Totalaktivität). Umgekehrt für einige Sekunden auf saugfähiges Papier stellen, um alle Restflüssigkeit zu entfernen. Darauf achten, dass kein Präzipitat beim Dekantieren verloren geht. Röhrchen nach dem Aufrichten nicht nochmals Umkehren. Unsachgemäßes Dekantieren und Blotten kann schlechte Doppelwerte und falsche Ergebnisse bewirken.
11	Jedes Röhrchen in einem Gammacounter für mindestens 1 Minute zählen oder bis eine Zählrate von mindestens 10.000 erreicht ist.
12	Die Ergebnisse wie im Abschnitt "Auswertung der Testergebnisse" beschrieben auswerten .

Testdurchführung – Zusammenfassung

(alle Mengenangaben in µl)

	Totalaktivität	NSB	Kalibratoren	Kontrollen & unbekannt
Proben pipettieren		100	100	100
Tracer (rot) pipettieren	200	200	200	200
Antiserum (blau) pipettieren			200	200
Aqua dest. pipettieren		200		
Mischen		x	x	x
2 Std. bei 37°C inkubieren		x	x	x
Trennreagenz pipettieren		500	500	500
Mischen		x	x	x
30 Min. bei RT (18...25°C) inkubieren		x	x	x
Zentrifugieren: 30 Min. bei 2000 x g		x	x	x
Dekantieren		x	x	x
1 Min. oder bis 10 000 cpm zählen	x	x	x	x

8. QUALITÄTSSICHERUNG

Laborinterne Programme zur Qualitätssicherung sollten von allen medizinischen Laboratorien durchgeführt werden. U.a. sollte die Testdurchführung mit Hilfe von Kontrollseren im unteren und oberen Referenzbereich überprüft werden. Der UniQ ICTP RIA enthält zwei Kontrollen: ICTP RIA Control 1 & 2. Die erwarteten Bereiche der Kontrollen sind auf einem gesonderten Blatt aufgeführt, das dem Test beiliegt. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Akzeptanzbereiche für die verwendeten Kontrollen erstellt. Der Mittelwert dieser Kontrollen sollte in den von Aidian angegebenen Akzeptanzbereichen liegen. Für die Bestimmung des Mittelwerts der Kontrollen wird empfohlen, diesen anhand von mindestens zwei unterschiedlichen Kit-Chargen zu erstellen. Sobald die Kontrollbereiche erstellt worden sind, sollten bei jedem Ansatz die Kontrollen in Doppelbestimmung mitgeführt werden.

9. AUSWERTUNG DER TESTERGEBNISSE

Für eine automatische Auswertung der Ergebnisse empfiehlt sich eine Kurvenanpassung mittels dem Modell der Spline-Funktion. Die Auswertung kann aber auch manuell mit Hilfe von semi-log Millimeterpapier durchgeführt werden.

- Für die Kalibratoren, Proben und Kontrollen die mittlere Zählrate berechnen.
- $\%B/B_0$ anhand der nachfolgenden Gleichung berechnen:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{Zählrate Kalibrator oder Probe} - \text{NSB}}{\text{Zählrate 0-Kalibrator} - \text{NSB}} \times 100$$

wobei B die gebundene Radioaktivität einer Probe oder eines Kalibrators, B_0 die gebundene Radioaktivität des Nullkalibrators und NSB die unspezifisch gebundene Radioaktivität darstellen.

- Auf semilogarischem Papier eine Standardkurve **zeichnen**, indem die $\%B/B_0$ –Werte der einzelnen Kalibratoren auf der Ordinate (y-Achse) gegen die entsprechenden PINP-Konzentrationen ($\mu\text{g/l}$) der Kalibratoren auf der Abszisse (x-Achse) aufgetragen werden.
- Die ICTP-Konzentrationen der Proben durch Interpolation ihrer $\%B/B_0$ -Werte auf der Standardkurve **ablesen**.
- **Proben, deren Wert unterhalb des niedrigsten Standards liegt, sind so anzugeben.**
- **Proben, deren Wert oberhalb des höchsten Standards liegt, sollten verdünnt und nochmals bestimmt werden.** Die Werte der verdünnten Proben müssen um dem Verdünnungsfaktor korrigiert werden.

Abb. 1 Typische Standardkurve.
Die Kurve dient nur als Beispiel.

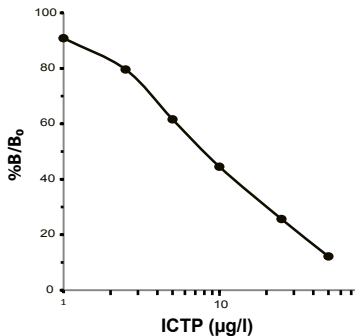


Tabelle 1 Berechnungsbeispiel anhand typischer Daten.

Diese Daten dienen nur als Beispiel und dürfen nicht zur Berechnung eines Probenergebnisses benutzt werden.

Röhrchen	MW cpm	cpm- NSB	$\%B/B_0$	ICTP ($\mu\text{g/l}$)
Total	39445			
NSB	1397			
Kal 0	17333	15936		
Kal 1.0	15875	14478	90.9	
Kal 2.5	14078	12681	79.6	
Kal 5.0	11215	9818	61.6	
Kal 10	8489	7092	44.5	
Kal 25	5482	4085	25.6	
Kal 50	3334	1937	12.2	
Unbekannt 1	9494	8097	50.8	7.6
Unbekannt 2	6046	4649	29.2	20.9

10. GRENZEN DES VERFAHRENS

Die ICTP-Werte zeigen eine deutliche zirkadiane Rythmik mit einem Konzentrationsmaximum nachts. Bei Niereninsuffizienz und einer glomerulären Filtrationsrate von 50 ml/Min./1,73 m² der weniger sind die ICTP-Spiegel im Blut erhöht. Die Leber spielt offenbar beim Abbau des ICTP-Antigens keine Rolle. Für das weitere diagnostische und therapeutische Vorgehen müssen die ICTP-Ergebnisse durch andere klinisch relevante Daten ergänzt werden.

11. ERWARTETE WERTE

Normbereiche können in Abhängigkeit ethnischer, diätischer und altersbedingter Unterschiede schwanken. Daher sollte jedes Labor seine eigenen repräsentativen Normbereiche erstellen.

Die ICTP-Spiegel im Serum wurden bei offensichtlich gesunden Probanden (19–74 Jahre) mit dem ICTP RIA Kit gemessen. Die Normbereiche und Vertrauensbereiche der oberen und unteren Grenzwerte wurden mittels nicht-parametrischer Methoden entsprechend den Empfehlungen der IFCC ermittelt.

Tabelle 2 ICTP-Normbereiche im Serum

	Frauen	Männer
Zahl der Probanden	146	125
Mittelwert	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Normbereich*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
0,90-Vertrauensbereiche für unteren Grenzwert	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
für oberen Grenzwert	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

* Normbereich = 0,025 & 0,975 Perzentile

ICTP Werte für Kinder wurden anhand einer gesunden Kinderpopulation – Alter 0 Monate bis 18 Jahre – abgeleitet (interne, nicht veröffentlichte Daten). Die ermittelten Werte sind Anhaltspunkte und keine verbindlichen Richtwerte.

Tabelle 3 Typische ICTP Werte im Serum von Kindern

Altersklassen		Unterer Grenzwert (µg/l)	Mittelwert (µg/l)	Oberer Grenzwert (µg/l)
Jungen und Mädchen	0–3 Monate	51	61	71
	3–6 Monate	23	32	40
	6–12 Monate	15	22	30
	1–2 Jahre	12	16	20
	2–9 Jahre	7	11	16
Jungen	9–13 Jahre	8	11	15
	13–16 Jahre	10	16	23
	16–18 Jahre	8	9	11
Mädchen	9–11 Jahre	9	12	15
	11–14 Jahre	10	13	16
	14–16 Jahre	6	10	14
	16–18 Jahre	4	5	7

12. LEISTUNGSMERKMALE

Die hier dargestellten Werte wurden intern von Aidian ermittelt und repräsentieren typische Testergebnisse.

Messbereich

1,0–50 µg/l.

Nachweisgrenze

Besser als 0,6 µg/l.

Bestimmungsgrenze

Ungefähr 1,8 µg/l.

Linearität

Fünf Serumproben mit hoher Konzentration wurden mit fünf Serumproben mit niedriger Konzentration seriell verdünnt. Die mittlere Wiederfindung der Proben betrug 102 %.

Wiederfindung

Bekannte Mengen von ICTP wurden drei Patientenproben mit niedriger Konzentration beigegeben. Die mittlere Wiederfindung betrug 109 %.

Präzision

Die Präzision in der Serie und von Tag zu Tag wurde anhand gepoolter Seren mit unterschiedlichen ICTP-Konzentrationen ermittelt

Tabelle 4 Präzision in der Serie

Von Tag zu Tag Präzision in der Serie aus 20 Replikanten			Präzision von Tag zu Tag aus 10 Doppelbestimmungen		
Probe	Mittelwert (µg/l)	VK (%)	Probe	Mittelwert (µg/l)	VK (%)
1	3,3	7	4	4,3	10
2	7,8	5	5	12,1	8
3	45,0	5	6	24,4	8

Interferenz

Serum-Bilirubin (< 400 µmol/l) und Serum-Hämoglobin (bis 5 g/l) haben keinen Einfluss auf die Messwerte. Triglyceride < 5 g/l haben keinen Einfluss. Lipämische Proben sind zu vermeiden.

Spezifität

Die antigene Determinante des Antikörpers befindet sich innerhalb der beiden hydrophoben, Phenylalanin-reichen Sequenzen der trivalenten Quervernetzung von ICTP. Eine trivalente Quervernetzung ist erforderlich. Divalente Vernetzungen und monomere Peptide mit nur einer Phenylalanin-reichen Sequenz zeigen eine nur schwach ausgeprägte Immunreaktion. Das ICTP RIA Antiserum zeigte keine Kreuzreaktion gegenüber Antigenen auf, die in anderen UniQ Kollagentests eingesetzt werden.

13. NACHWEISBARKEIT

Die Messwerte (Analyt), der im UniQ ICTP RIA eingesetzten Kalibratoren, beziehen sich auf die Arbeitskalibratoren des Herstellers. Diese wurden aus hoch gereinigtem ICTP hergestellt und dessen Wert mittels Analyse ihrer Aminosäurezusammensetzung bestimmt.

14. ENTSORGUNG

- Inhalt entsprechend nationalem und lokalem Recht zuführen.
- Alle Patientenproben und Kontrollen sollten als potenziell infektiöses Material behandelt werden.
- Radioaktive Abfälle müssen in Übereinstimmung mit den geltenden Gesetzen entsorgt werden.
- Materialien der Komponenten:
 - Papier: Gebrauchsanweisung
 - Karton: Kit-Box
 - Kunststoff: Trennreagenz-Fläschchen, Fläschchenstopfen
 - Gummi: Stopfen
 - Glas: Tracer, Antiserum, Kalibrator und Kontrollenfläschchen
 - Schaumstoff
- Wird der Test in Übereinstimmung mit der Good Laboratory Practice, unter guten Hygienebedingungen und nach den Anweisungen dieser Bedienungsanleitung verwendet, stellen die Reagenzien keine Gefahr für die Gesundheit dar.

UniQ® ICTP RIA

Dosage Radio-immunologique du télopeptide C-Terminal du collagène de type I

1. BUT DU DOSAGE

La méthode UniQ ICTP RIA est un dosage radio-immunologique destiné à la mesure quantitative du télopeptide carboxyterminal du collagène de type I dans le sérum humain. **Pour diagnostic *in vitro*.**

2. RESUME ET EXPLICATION

Le collagène de type I est le type de collagène que l'on trouve en plus grande quantité dans le corps. C'est aussi le seul type de collagène présent dans l'os, où il constitue plus de 90 % de la matrice organique. On le trouve également dans le tissu conjonctif en association avec d'autres collagènes de type III, V et VI mais toujours en plus grande concentration que les autres types.

Le collagène de type I des tissus est présent dans des fibres dont la structure présente certaines variations en fonction du tissu. Dans les os, les molécules du collagène de type I sont liées entre elles par trois résidus d'hydroxylysine, de lysine ou de leurs dérivés et aboutissant à la formation de la pyridinoline, composé fluorescent caractérisé par une structure cyclique, ainsi que d'un autre composé non-fluorescent de structure inconnue, reliant trois différentes chaînes polypeptidiques de collagène. Dans les tissus conjonctifs comme la peau, le principal agent de pontage du collagène mature de type I est non-fluorescent et contient de l'histidine parmi ses résidus d'acides aminés. L'ICTP est le télopeptide carboxyterminal du collagène de type I, connecté via des liaisons trivalentes et libéré lors de la dégradation du collagène mature de type I. On retrouve ce peptide sous une forme immuno-chimiquement intacte dans le sang, ce qui semble être le résultat de la résorption osseuse et de la dégradation des tissus conjonctifs. On a récemment montré que l'antigène ICTP est produit sous l'action, par exemple, de métalloprotéinases de matrice, qui sont les enzymes impliquées dans la destruction du tissu dans diverses pathologies.

On observe des concentrations élevées de télopeptide C-terminal du collagène de type I dans des conditions associées avec une augmentation de la lyse osseuse, telles que les myélomes multiples, les métastases ostéolytiques, la polyarthrite rhumatoïde chronique mais aussi en cas d'immobilisation. Comme le télopeptide C-terminal du collagène de type I n'est pas produit par la résorption osseuse physiologique médiée par la cathepsine-K, la ménopause par exemple, affecte moins sa concentration.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

La méthode UniQ ICTP RIA utilise une technique radio-immunologique par compétition. Une quantité connue de ICTP marqué et une quantité inconnue ICTP non marqué présent dans l'échantillon entrent en compétition pour un nombre limité de sites anticorps de liaison. Après lavage et élimination de l'anticorps non lié, la quantité de ICTP marqué dans le tube est inversement proportionnelle à la quantité de ICTP de l'échantillon. Les concentrations des échantillons inconnus sont obtenues à partir de la courbe d'étalonnage.

5. REACTIFS

UniQ® ICTP RIA, Cat. No. 68601

Composant Nom et origine	Symbol	 100	Stabilité à 2...8°C	
			Intact	Ouvert
Traceur	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioactivité < 200 kBq	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	6 semaines
Antisérums ORIG RAB	Ab	22 ml	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	6 semaines
Etalons	CAL xx µg/l	7 x 0.75 ml	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	6 semaines
Contrôle ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	1 semaine après reconstitution
Réactif de séparation ICTP RIA	REAG SEPAR	60 ml	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	6 semaines
Mode d'emploi				

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme conservateur, voir le chapitre 5 «Mises en garde et précautions».

Préparation des réactifs

Les contrôles sont lyophilisés. Tous les autres réactifs sont prêts à l'emploi.

Laisser revenir les contrôles à la température ambiante (18...5°C) avant ouverture. Reconstituer les contrôles en ajoutant 1,0 ml d'eau distillée ou désionisée dans chaque flacon. Fermer et bien mélanger en remuant doucement pour éviter la formation de mousse. Laisser reposer 30 minutes avant utilisation.

Détérioration du réactif

Un changement dans l'aspect physique des réactifs ou dans la courbe d'étalonnage, ou des valeurs des contrôles en dehors de la gamme signalée par le fabricant peuvent indiquer une instabilité des réactifs. Ne pas utiliser si vous soupçonnez une dégradation des réactifs.

5. MISE EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

Informations concernant la santé et la sécurité

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Tous les échantillons patient et les contrôles doivent être manipulés comme des matériaux potentiellement infectieux.

- Les contrôles contiennent des échantillons d'origine humaine, qui ont été testés et s'avèrent négatifs aux anti-corps anti-virus d'immunodéficience humaine (HIV 1 et 2), au virus de l'hépatite C (VHC) et aux antigènes de surface de l'hépatite B (HBsAg). Par précaution, manipuler les contrôles comme un agent potentiellement infectieux.
- Les réactifs lyophilisés contiennent < 1% d'azide de sodium (Aquatic Chronic 3). Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme (H412). Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique (EUH032). Éviter le rejet dans l'environnement (P273). Éliminer le contenu conformément aux réglementations nationales et locales en vigueur (P501). L'azide de sodium peut réagir avec le plomb des canalisations pour former des composés explosifs. La formation de composés explosifs peut être évitée en rinçant abondamment avec de l'eau lors de la mise au rebut des réactifs.
- Les réactifs reconstitués et les réactifs liquides contiennent < 0,1% d'azide de sodium, concentration à laquelle il n'est pas nocif.
- Le kit contient de l'iode ¹²⁵I (durée de demi-vie T_{1/2} de 60 jours), émettant des rayons gamma à hauteur de 35,5 keV et des rayons X entre 27 et 32 keV. Le matériau radioactif présent dans ce kit ne peut être réceptionné, acquis, détenu et utilisé que par des médecins, des laboratoires cliniques, des établissements de recherche ou des hôpitaux. Il n'est destiné qu'aux tests cliniques ou de laboratoire in vitro n'impliquant aucune administration interne ou externe du matériau ou des radiations émises à des êtres humains ou à des animaux. Tous les matériaux radioactifs doivent être conservés et manipulés uniquement dans les zones conçues à cet effet. L'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis aux lois en vigueur dans le pays de l'utilisateur.
- Éviter tout contact avec la peau et les yeux. En cas de contact avec la peau, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et décontaminer, en suivant les directives de votre institution pour les déversements accidentels.
- Tout déversement de matériaux radioactifs doit être immédiatement nettoyé à l'aide d'un détergent et les matériaux de nettoyage contaminés doivent être transférés dans le récipient à déchets radioactifs ou manipulés conformément aux recommandations édictées par le bureau de sûreté nucléaire.
- Les déchets radioactifs doivent être mis au rebut conformément aux lois en vigueur. Se reporter aux réglementations et procédures relatives aux radiations et applicables à votre établissement pour les opérations de manipulation, de stockage et de mise au rebut des matériaux radioactifs.

Précautions pour l'analyse

- Ne pas utiliser le produit au-delà de sa date de péremption figurant sur l'emballage.
- Ne pas dépasser la période de stabilité des réactifs ouverts.
- Ne pas utiliser des composants issus de lots ou de tests différents.

6. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Aucune préparation particulière du patient n'est nécessaire avant la collecte de l'échantillon.

Il faut utiliser le sérum d'un échantillon sanguin veineux prélevé selon les techniques médicales acceptables et suivant les précautions habituelles en cas de ponction veineuse. Ce dosage ne doit pas être effectué sur les échantillons plasmatiques.

Des sérums très lipémiques, hémolysés ou microbiologiquement contaminés ne doivent pas être utilisés.

Manipulation et conservation des échantillons

Après la collecte des échantillons, laisser coaguler le sang et séparer le sérum par centrifugation. Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 5 jours à 2...8°C. Pour de plus longues périodes, congeler à une température inférieure ou égale à -20°C. Eviter les congélations et décongélations répétées.

Des échantillons possédant des concentrations élevées du ICTP peuvent être dilués en utilisant une solution saline 0,9%.

7. REALISATION DU DOSAGE

Voir le chapitre 4 «Reactifs», pour la liste des réactifs.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes (100 µl, 200 µl, 500 µl et 1000 µl)
- Tubes de dosage (polystyrene)
- Papier absorbant
- Parafilm
- Mélangeur Vortex
- Bain Marie (à 37 ±1°C)
- Portoir de decantation
- Centrifugeuse (pour 2000 g)
- Compteur Gamma
- Eau distillée

Appareils

Tous les compteurs gamma capables de mesurer la radioactivité de l'iode 125 peuvent être utilisés. L'efficacité de comptage de l'appareil doit être vérifiée régulièrement, ainsi que le bruit de fond. Il est conseillé d'étalonner l'appareil systématiquement. Consulter le manuel d'utilisation du fabricant pour l'installation, l'utilisation, l'entretien et l'étalonnage.

Détails de la technique

1	Laisser revenir tous les réactifs et les échantillons à température ambiante (18...25°C) au moins 30 minutes avant utilisation.
2	Marquer en double les tubes revêtus pour les LNS (liaisons non-spécifiques), les étalons, les contrôles, les échantillons des patients et l'activité totale.
3	Introduire 100 µl de chaque étalon, contrôle et échantillon de patients dans les tubes appropriés. N'importe quel échantillon de patient peut être mis dans les tubes LNS.
4	Ajouter 200 µl de traceur (rouge) dans tous les tubes.
5	Ajouter 200 µl d'antisérum (bleu) dans tous les tubes sauf tubes LNS et pour l'activité totale. Ajouter 200 µl d'eau distillée dans les tubes LNS.
6	Agiter tous les tubes avec le vortex, couvrir les tubes avec du parafilm et incuber pendant 2 heures à 37 ±1°C au bain-marie.
7	Mélanger en remuant doucement le réactif de séparation et en ajouter 500 µl dans tous les tubes, sauf les tubes pour l'activité totale.
8	Agiter tous les tubes au vortex et incuber pendant 30 minutes à température ambiante.
9	Centrifuger tous les tubes sauf ceux pour l'activité totale pendant 30 minutes à 2000 g minimum et à une température comprise entre 4 et 20°C (4°C est recommandé).

10	Décanner et taper le bord de chaque tube, sauf les tubes de l'activité totale, sur du papier absorbant et laisser égoutter quelques secondes pour éliminer tout liquide restant. Faire attention à ne décanter aucun précipité. Ne pas retourner à nouveau les tubes une fois qu'ils ont été remis à l'endroit. Faire attention à bien décanter et égoutter les tubes au risque de constater une mauvaise réplcation et des valeurs erronées.
11	Compter chaque tube avec un compteur Gamma pendant au moins 1 minute par tube ou jusqu'à obtention de 10 000 coups par tube.
12	Calculer les résultats selon la partie "Interprétation des résultats" du présent document.

Réalisation du dosage – résumé

(tous les volumes sont donnés en µl)

	Total	LNS	Etalon	Contrôle et échantillon
Ajouter échantillon		100	100	100
Ajouter traceur (rouge)	200	200	200	200
Ajouter antisérum (bleu)			200	200
Ajouter eau distillée		200		
Mélanger		x	x	x
Incuber 2h à 37°C		x	x	x
Ajouter réactif de séparation		500	500	500
Mélanger		x	x	x
Incuber 30 min à température ambiante (18...25°C)		x	x	x
Centrifuger 30 min à 2000 g		x	x	x
Décantation		x	x	x
Comptage pendant 1 min ou 10 000 coups	x	x	x	x

8. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé que tous les laboratoires cliniques adopte un programme de contrôle de qualité interne. Ainsi le dosage de sérums de contrôle dans les parties inférieures et supérieures de l'intervalle de référence est conseillé pour contrôler le fonctionnement du dosage. La trousse UniQ ICTP RIA fournit deux contrôles: ICTP Control 1 & 2. Les gammes de référence des contrôles sont indiquées sur une feuille à part, fournie à l'intérieur du kit. Il est également recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres intervalles acceptables pour les contrôles utilisés dans le laboratoire. La valeur moyenne du contrôle devrait se situer dans l'intervalle fixé par le fabricant. Il est conseillé d'utiliser au moins 2 lots de trousses différents pour déterminer la valeur du contrôle. Une fois que les gammes de contrôle seront établies, les contrôles devraient être dosés en double avec chaque série.

9. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Pour le calcul par ordinateur, il est recommandé d'utiliser une fonction spline. Les résultats peuvent aussi être représentés manuellement sur du papier semi-logarithmique.

- **Calculer** la moyenne des coups pour tous les étalons, échantillons et contrôles.
- **Calculer** le pourcentage B/B₀ à l'aide de la formule suivante:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{cpm étalon ou échantillon} - \text{LNS}}{\text{cpm étalon 0} - \text{LNS}} \times 100$$

ou B correspond à la réactivité liée d'un échantillon ou étalon, B₀ correspond à la réactivité liée de l'étalon 0 et LNS signifie la réactivité des liaisons non-spécifiques.

- **Tracer** la courbe d'étalonnage sur du papier semi-logarithmique avec le pourcentage B/B₀ en ordonnée (axe-y) et les concentrations en ICTP (µg/l) des étalons en abscisse (axe-x).
- **Déterminer** les concentrations en ICTP des échantillons inconnus à partir de la courbe d'étalonnage.
- **Tout échantillon affiché au-dessous de l'étalon minimum doit être constaté comme tant.**
- **Tout échantillon constaté au-dessus de l'étalon maximum doit être dilué et repassé au dosage.** Après dilution, les valeurs doivent être corrigées selon le facteur de dilution.

Fig. 1 Courbe d'étalonnage type.
Cette courbe est à titre d'exemple.

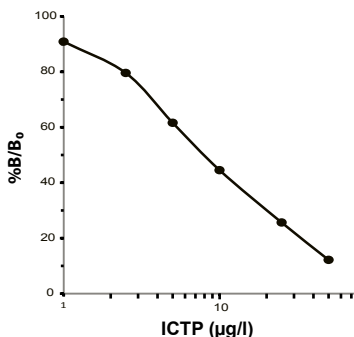


Tableau 1 Calcul des résultats avec des données type.

Ces données ne doivent être utilisées pour un calcul de résultats d'échantillon.

Tube	Moy- enne cpm	LNS cpm	%B/B ₀	ICTP (µg/l)
Total	39445			
LNS	1397			
Etal. 0	17333	15936		
Etal. 1.0	15875	14478	90.9	
Etal. 2.5	14078	12681	79.6	
Etal. 5.0	11215	9818	61.6	
Etal. 10	8489	7092	44.5	
Etal. 25	5482	4085	25.6	
Etal. 50	3334	1937	12.2	
Inconnu 1	9494	8097	50.8	7.6
Inconnu 1	6046	4649	29.2	20.9

10. LIMITES DE LA METHODE

La concentration de ICTP varie pendant la journée, et elle est plus élevée la nuit. Une insuffisance rénale, avec un taux de filtration glomérulaire inférieur ou égal à 50 ml/min/1,73 m² peut conduire à une concentration élevée de ICTP dans le sang. Le foie ne semble pas être impliqué dans le métabolisme de l'antigène ICTP sérique. La

détermination de la concentration de ICTP donne une indication pour le diagnostic et les traitements à suivre, mais doit être complétée par d'autres données cliniques pertinentes.

11. VALEURS DE REFERENCE

En raison des différences ethniques, d'alimentation et d'âge, les limites de référence données peuvent ne pas être applicables à toutes les populations. Par conséquent, chaque laboratoire devrait établir ses propres limites de références représentatives.

La concentration de ICTP a été mesurée, avec la trousse UniQ ICTP RIA chez des adultes apparemment en bonne santé (19–74 ans). La méthode non-paramétrique recommandée par l'IFCC a été utilisée pour le calcul des limites inférieures et supérieures des intervalles de référence.

Tableau 2 Limites de référence pour le ICTP sérique

	Femme	Homme
Nombres de sujets	146	125
Moyenne	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Intervalle de référence*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
Intervalles de confiance à 90%		
- pour la limite de référence inférieure	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
- pour la limite de référence supérieure	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

*Intervalle de référence = quantiles 0,025 & 0,975

Les valeurs de l'ICTP chez l'enfant ont été dérivées d'une population d'enfants en bonne santé entre les âges de 0 mois et 18 ans (données non publiées). Ces valeurs sont uniquement à titre indicatif.

Tableau 3 Valeurs typiques de l'ICTP sérique chez l'enfant

Groupes d'âge		Limite inférieure (µg/l)	Moyenne (µg/l)	Limite supérieure (µg/l)
Garçons et filles	0–3 mois	51	61	71
	3–6 mois	23	32	40
	6–12 mois	15	22	30
	1–2 ans	12	16	20
	2–9 ans	7	11	16
Garçons	9–13 ans	8	11	15
	13–16 ans	10	16	23
	16–18 ans	8	9	11
Filles	9–11 ans	9	12	15
	11–14 ans	10	13	16
	14–16 ans	6	10	14
	16–18 ans	4	5	7

12. PERFORMANCES DU DOSAGE

Les résultats présentés ci-dessous ont été obtenus chez Aidian et représentent les données typiques.

Etendue de mesure

1,0–50 µg/l.

Limite de détection

Inférieur à 0,6 µg/L.

Limite de quantification

Approximativement 1,8 µg/L

Linéarité

5 échantillons de sera à fortes concentrations ont été dilués en série avec 5 échantillons de sera à basses concentrations. La moyenne de récupération des échantillons était de 102%.

Récupération

Des quantités connues d'ICTP ont été ajoutées à 3 sera patients de faibles concentrations. La moyenne de récupération était de 109 %.

Précision

La précision intra-essai et inter-essais a été estimée sur des pools d' échantillons sériques contenant différentes concentrations de ICTP.

Tableau 4 Précision intra-essai et inter-essais

Précision intra-essai de 20 multiplets			Précision inter-essais de 10 déterminations en doublets		
Echantillon	Moyenne (µg/l)	CV (%)	Echantillon	Moyenne (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Substances interférentes

Une concentration sérique de bilirubine < 400 µmol/l n'interfère pas. Une concentration sérique d'hémoglobine inférieure ou égale à 5 g/l n'interfère pas non plus. Une concentration de triglycérides < 5 g/l n'interfère pas. L'utilisation de sérums lipémiques n'est pas recommandée.

Spécificité analytique

Le déterminant antigénique de l'anticorps se trouve à l'intérieur des deux séquences hydrophobes et riches en phénylalanine de l'ICTP lié par des liaisons trivalentes. Une liaison trivalente est nécessaire, dans la mesure où les liaisons divalentes et les peptides monomériques contenant seulement une seule séquence riche en phénylalanine montrent une faible immunoréaction.

Il n'y a pas de réactivité croisée entre l'antisérum ICTP et les antigènes utilisés dans les autres tests de collagène UniQ.

13. TRACABILITE

Le mesurand (analyte) des étalons du kit UniQ ICTP RIA est traçable aux étalons du fabricant qui sont préparés à partir d'un ICTP purifié dont la valeur est assignée selon une analyse de la composition d'acides aminés.

14. MISE AU REBUT

- Éliminer le contenu conformément aux réglementations nationales et locales en vigueur (P501).
- Tous les échantillons patient et les contrôles doivent être manipulés comme des matériaux potentiellement infectieux.
- Les déchets radioactifs doivent être mis au rebut conformément aux lois en vigueur. Se reporter aux réglementations et procédures relatives aux radiations et applicables à votre établissement pour les opérations de manipulation, de stockage et de mise au rebut des matériaux radioactifs.
- Matériaux des composants:
 - Papier: manuel d'utilisation
 - Carton: boîte contenant le kit
 - Plastique: bouteille du réactif de séparation, bouchons des flacons
 - Caoutchouc: bouchons
 - Verre: flacons des traceurs, de l'anti sérum, des calibrateurs et des contrôles
 - Mousse de plastique
- S'ils sont utilisés selon les bonnes pratiques de laboratoire, avec une bonne hygiène du plan de travail et suivant le mode d'emploi, les réactifs ne représentent pas de danger pour la santé.

UniQ® ICTP RIA

C-terminal telopeptide of type I collagen, radioimmunoassay

1. TOEPASSING

UniQ PICTP RIA is een kwantitatieve radioimmunoassay, ontworpen voor de meting van de concentratie van carboxy-terminaal cross-linked telopeptide van het type I collageen, in human serum.

Alleen voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

2. SAMENVATTING EN UITLEG

Type I collageen is het meest overvloedige collageen-type in het lichaam en het enige collageen-type dat wordt gevonden in gemineraliseerd bot, waar het voor meer dan 90 % deel uitmaakt van de organische matrix. Voorts wordt type I collageen gevonden in los bindweefsel, samen met andere types collageen zoals type III, V en VI. Type I collageen echter is het meest voorkomende type in deze weefsels.

Type I collageen is aanwezig in vezels, de structuur die enige variatie toont ten opzichte van weefsel. In bot worden de type I collageen-moleculen ge-cross-linked met drie residuen van hydroxyllysine, lysine of hun derivaten, die een fluorescente cyclische pyridoline-structuur en non-fluorescente onbekende structuur vormen, en vervolgens drie verschillende collageen-polypeptideketens samen koppelen.

In los bindweefsel, zoals de huid, is de belangrijkste cross-link van type I collageen niet fluorescent en bevat histidine als een van de aminozuur-residuen.

ICTP is het carboxyterminaal telopeptide gebied van type I collageen, en wordt als trivalente crosslink vrijgemaakt tijdens degradatie van type I collageen. Dit peptide wordt gevonden in een immunochemische intacte vorm in bloed waar het afgeleid wordt van botresorptie en degradatie van los bindweefsel. Het is aangetoond dat het ICTP-antigeen wordt geproduceerd door de werking van matrix-metalloproteinases, dit zijn enzymen die betrokken zijn bij weefseldestructie in diverse pathologische omstandigheden.

Verhoogde concentraties van ICTP in serum worden daarom gezien tijdens condities die zijn geassocieerd met verhoogde lysis van bot, zoals bij multiple myeloom, osteolytische metastasen, reumatoïde artritis, en bij immobilisatie. Omdat ICTP niet wordt geproduceerd door fysiologisch cathepsine-K gemedieerde botresorptie, wordt de concentratie minder beïnvloed door omstandigheden zoals bij de menopauze.

3. TESTPRINCIPES

UniQ ICTP RIA kit is gebaseerd op de competitieve radioimmunoassay techniek.

Een bekende hoeveelheid van gelabeld ICTP en een onbekende hoeveelheid van niet-gelabeld ICTP in het monster concurreren voor een gelimiteerd aantal bindingsplaatsen van een antilichaam met hoge affiniteit. Na scheiding van het vrije antigeen is de hoeveelheid van gelabeld ICTP in het monsterbuisje omgekeerd evenredig met de hoeveelheid ICTP in het monster. De concentraties in de onbekende monsters worden verkregen door middel van een kalibratiecurve.

4. REAGENTIA

UniQ® ICTP RIA, Cat. No. 68601

Naam component en oorsprong	Symbool	 100	Stabiliteit bij 2...8°C	
			Niet geopend	Geopend
Tracer 125I (rood)	Ag ¹²⁵ I	22 mL Radioactivity < 200 kBq	Tot de exp. datum die staat vermeld op het label	6 weken
Antiserum (blauw) ORIG RAB	Ab	22 mL	Tot de exp. datum die staat vermeld op het label	6 weken
Kalibratoren	CAL xx µg/l	7 x 0.75 mL	Tot de exp. datum die staat vermeld op het label	6 weken
Controles ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 mL	Tot de exp. datum die staat vermeld op het label	1 week na het oplossen
ICTP RIA Scheidingsreagens	REAG SEPAR	60 mL	Tot de exp. datum die staat vermeld op het label	6 weken
Gebruiksaanwijzing				

De reagentia bevatten natriumazide als conserveermiddel. Zie hoofdstuk 5 "Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen".

Vorbereiding reagentia

De controles zijn gevriesdroogd. Alle andere reagentia zijn klaar voor gebruik.

Laat de controle-flacon vóór opening eerst op kamertemperatuur komen (18...25°C).

Los de controles op door toevoeging van 1,0 mL gedestilleerd- of gedemineraliseerd water aan het flesje. Sluit het flesje af en meng voorzichtig door zwenken of door om te keren. Laat vóór gebruik 30 min. staan.

Bederf van reagentia

Veranderingen in de fysische vorm van de reagentia of de helling van de kalibratiecurve, of van gescoorde waarden van controle-sera buiten de door de fabrikant opgegeven acceptabele range, kunnen een indicatie zijn voor instabiliteit van reagens. Gebruik geen reagentia die mogelijk bedorven kunnen zijn.

5. WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

Gezondheids- en veiligheidsinformatie

- Alleen voor in vitro diagnostisch gebruik.
- Pipetteer niet met de mond.
- Alle patiëntenmonsters en controles dienen te worden behandeld als potentieel infectieus materiaal.
- De controles bevatten materiaal van humane oorsprong, deze zijn getest en negatief bevonden voor humane immuun-deficiënte virus antilichamen (HIV 1 en 2), hepatitis C virus (HCV) en hepatitis B oppervlakte-antigeen (HBsAg). Behandel uit voorzorg deze controles alsof het een mogelijk infectieus reagens is.

- Gevriesdroogde reagentia bevatten < 1 % natriumazide (Aquat. Chron. 3). Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen (H412). Vormt zeer giftig gas in contact met zuren (EUH032). Voorkom lozing in het milieu (P273). Inhoud afvoeren volgens nationale en lokale wetgeving (P501). Azides kunnen ook reageren met loden afvoerpijpen er ontstaan dan explosieve verbindingen. Het concentreren van azide kan worden vermeden door tijdens afvoer van reagentia met grote volumes water te spoelen.
- Opgeloste en vloeibare reagentia bevatten < 0,1 % natriumazide, dit is geen schadelijke concentratie.
- De kit bevat 125I-tracer (halfwaarde tijd t_{1/2} van 60 dagen), dit isotoop emiteert 35.5 keV gammastralen en 27–32 keV röntgenstralen. Het radio-actieve materiaal in deze kit mag alleen in ontvangst worden genomen, behandeld en gebruikt, door artsen, klinische laboratoria, research-instituten of ziekenhuizen. Alleen voor gebruik van in vitro klinische- laboratorium- diagnostische testen, zonder inwendig of uitwendig gebruik van het materiaal, of daaruit voortkomende straling voor mens en dier. Alle radioactieve materialen dienen alleen te worden opgeslagen en behandeld in speciaal daarvoor aangewezen gebieden. Aankoop, opslag, gebruik of scheiding van radioactieve producten zijn onderworpen aan de geldende wetgeving in het land van de gebruiker.
- Vermijd contact met huid en ogen. Na contact met de huid, was onmiddellijk met veel water en maak de huid schoon volgens de richtlijnen van uw instelling, voor per ongeluk gemorste vloeistoffen.
- Gemors van radioactieve materialen dient onmiddellijk te worden schoongemaakt met een wasmiddel en de gecontamineerde materialen dienen te worden overgebracht naar een container voor radioactief afval, of dienen te worden behandeld volgens de aanbevelingen van de stralingsveiligheids-dienst.
- Zie de regelgeving voor straling en de toepassingsprocedures van uw instelling, mbt behandeling, opslag en afvoer van radioactieve materialen.

Analytische voorzorgsmaatregelen

- Gebruik het product niet na de expiratedatum, die staat aangegeven op de buitenkant van de verpakking.
- Overschrijd de houdbaarheidsperiode niet voor geopende reagentia.
- Meng geen componenten van verschillende lotnummers of van verschillende testen.

6. MONSERVERZAMELING EN PREPARATIE

Er is geen speciale voorbereiding voor de patient nodig voordat een monster wordt afgenomen.

Er dient serum te worden gebruikt nadat een normaal veneus bloedmonster is verzameld volgens een acceptabele medische techniek die voldoet aan de normale voorzorgsmaatregelen voor venipuncture. De bepaling kan niet worden gebruikt voor plasmamonsters. Gebruik van hoog lipemische, gehemolyseerde of microbiologisch gecontamineerde patiëntenmonsters dienen te worden vermeden.

Monsterbehandeling en opslag

Laat het bloed na verzameling van het monster stollen en scheid het serum door te centrifugeren. Serummonsters kunnen 5 dagen worden bewaard bij 2...8°C. Voor opslag bij langere perioden, bewaar de monsters bij –20°C of kouder. Vermijd herhaaldelijk invriezen en ontdooien.

Monsters met een hoge ICTP- concentratie kunnen worden verdund met een fysiologische zoutoplossing (0,9 % NaCl).

7. PROCEDURE

Zie hoofdstuk 4, "Reagentia", voor de lijst met reagentia.

Benodigde materialen maar niet meegeleverd

- Pipetten (100 µL, 200 µL, 500 µL en 1000 µL)
- Testbuizen (polystyreen)
- Absorberend papier
- Parafilm
- Vortex mixer
- Waterbad (geschikt voor $37 \pm 1^\circ\text{C}$)
- Decanteerrack
- Centrifuge (geschikt voor tenminste 2000 g)
- Gamma-counter
- Gedestilleerd water

Instrumenten

Iedere gammacounter die 125I kan meten, kan worden gebruikt. Het telrendement van het instrument dient regelmatig te worden gecontroleerd, evenals de achtergrondmetingen. Het verdient aanbeveling dat het instrument systematisch wordt gecalibreerd. Voor details van installatie, het gebruik, onderhoud en kalibratie, raadpleeg de bedieningshandleiding die door de producent van het instrument wordt meegeleverd.

Details van de procedure

1	Breng vóór gebruik eerst alle reagentia, controles en monsters op kamertemperatuur ($18\ldots 25^\circ\text{C}$), tenminste 30 min. vóór gebruik. Meng alle reagentia door vóór gebruik eerst voorzichtig te mengen.
2	Label de testbuizen in duplo voor de specifieke binding (NSB), de kalibratoren, de controles, de patiëntmonsters en de totaal tellingen.
3	Pipetteer 100 µL kalibrator, controle of patiëntmonster in de betreffende buizen. Voor de NSB kan elk willekeurig monster worden gepipetteerd.
4	Pipetteer 200 µL van de tracer (rood) in alle buizen.
5	Pipetteer 200 µL van het antiserum (blauw) in alle buizen behalve in de NSB- en de totaal tellingsbuizen. Pipetteer 200 µL gedestilleerd water in de NSB buizen.
6	Meng alle buizen (behalve de totaal telling-buizen) op een vortexmixer, bedek de buizen met parafilm en incubeer 2 uren bij $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
7	Meng het procollageen scheidingsreagens door de flacon zachtjes om te keren en voeg 500 µL toe aan alle buizen, behalve aan de totaal telling-buizen
8	Meng de buizen met een vortexmixer en incubeer 30 minuten bij kamertemperatuur ($18\ldots 25^\circ\text{C}$).
9	Centrifugeer alle buizen (behalve de totaal telling-buizen), 15 minuten bij minimaal 2000 g, bij $4\ldots 20^\circ\text{C}$ (4°C wordt aanbevolen).
10	Decanteer de supernatanten van alle buizen (behalve de totaal telling-buizen) door deze gelijktijdig om te keren. Dip de buizen voorzichtig op absorberend materiaal en laat ze een paar seconden afdruppen om achterblijvende vloeistof te verwijderen. Let goed op dat er geen precipitaat wordt gedecanteerd. Keer de buizen niet meer om nadat ze eenmaal rechtop zijn gezet. Foutief decanteren en afdippen kunnen resulteren in slechte duplowaarden en foutieve waarden.
11	Tel elke buis met een gammacounter gedurende 1 minuut, of totdat er 10.000 counts per buis zijn verzameld.
12	Bereken de resultaten zoals beschreven in het hoofdstuk 9 "Resultaten interpretatie".

Testprocedure-samenvatting

(alle volumina zijn weergegeven in µL)

	Totaal	NSB	Kalibrator	Controle & onbekende
Pipetteer monster		100	100	100
Pipetteer tracer (rood)	200	200	200	200
Pipetteer antiserum (blauw)			200	200
Pipetteer gedest. / demi water		200		
Meng		x	x	x
Incubeer 2 uren bij 37°C		x	x	x
Pipetteer scheidingsreagens		500	500	500
Meng		x	x	x
Incubeer 30 min bij 18...25°C		x	x	x
Centrifugeer 30 min bij 2000 g (4...20°C)		x	x	x
Decanteer		x	x	x
Tel 1 min. of 10 000 counts	x	x	x	x

8. KWALITEITSCONTROLE

Voor alle klinische laboratoria wordt een intern kwaliteitscontrole-programma aanbevolen. Daarom wordt gesuggereerd dat er controlesera worden geanalyseerd in zowel het lage alsook in het hoge gedeelte van de kalibratiecurve, dit om goede prestaties te verkrijgen van de procedure die wordt gevolgd.

Met de UniQ ICTP RIA-kit worden twee controles meegeleverd: ICTP RIA Control 1 & 2.

De verwachte meetrage van de controles staat vermeld op een separaat blad dat met de kit wordt meegeleverd. Het is aanbevolen dat elk laboratorium zijn eigen acceptabele ranges vaststelt voor de controle die wordt gebruikt. De gemiddelde score van de controle moet binnen de acceptabele range vallen zoals is vastgesteld door Aidian.

Verder wordt aanbevolen om tenminste twee separate kitlotnummers te gebruiken voor vaststelling van de controlewaarde. Wanneer de controle-ranges zijn vastgesteld dienen deze in elke run, in duplo te worden gemeten.

9. RESULTATEN INTERPRETATIE

Voor een automatische resultaatverwerking wordt geadviseerd een standaardcurve-fitting te gebruiken met Spline functie. Resultaten kunnen ook handmatig worden verkregen op semi-logaritmisch grafiekpapier.

- **Bereken** de gemiddelde telling voor alle kalibratoren, monsters en controles.
- **Bereken** het %B/B₀ van:

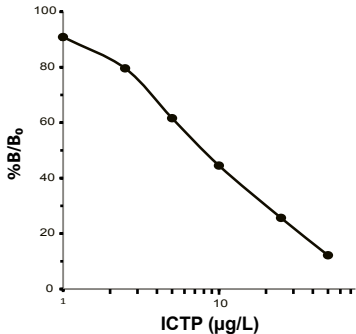
$$\%B/B_0 = \frac{\text{kalibrator of monstertelling} - \text{NSB}}{\text{Telling kalibrator 0} - \text{NSB}} \times 100$$

B is de gebonden hoeveelheid radioactiviteit van het monster of de kalibrator, B₀ is de gebonden hoeveelheid radioactiviteit van kalibrator 0, en NSB is de radioactiviteit van de aspecifieke binding.

- **Teken** een kalibratiecurve op semilogaritmisch grafiekpapier met de %B/B₀ waarden op de ordinaat (Y-as) en de ICTP-concentraties (µg/L) van de kalibratoren op de abscis (X-as).
- **Bepaal** de ICTP- concentraties van de onbekenden door aflezing op de kalibratiecurve.

- Elk monster dat lager wordt afgelezen dan de laagste kalibrator dient als zodanig gerapporteerd te worden.
- Elk monster dat hoger wordt afgelezen dan de hoogste kalibrator dient te worden verdund en opnieuw te worden bepaald. Na verdunning moeten de waarden worden gecorrigeerd met de verdunningsfactor.

Fig. 1 Typische kalibratiecurve
Deze kalibratiecurve is alleen ter illustratie.



Tabel 1 Berekening van de resultaten waarbij de typische data zijn gebruikt
Deze data zijn alleen ter illustratie en dienen niet te worden gebruikt voor berekening van een monsterresultaat.

Buis	gemidd. cpm	cpm-NSB	%B/B ₀	ICTP (µg/L)
Totaal	39445			
NSB	1397			
Kal 0	17333	15936		
Kal 1.0	15875	14478	90.9	
Kal 2.5	14078	12681	79.6	
Kal 5.0	11215	9818	61.6	
Kal 10	8489	7092	44.5	
Kal 25	5482	4085	25.6	
Kal 50	3334	1937	12.2	
Onbek.	9494	8097	50.8	7.6
Onbek.	6046	4649	29.2	20.9

10. BEPERKINGEN VAN DE PROCEDURE

Er is een diurnale variatie van ICTP-waarden, de nachtwaarden zijn hoger. Nierinsufficiëntie, een glomerulaire filtratiesnelheid (GFR) van 50 mL/min/1.73 m2 of minder leidt tot verhoogde ICTP-waarden in bloed. De lever lijkt niet betrokken te worden in het metabolisme van het serum ICTP-antigeen.

Als basis voor diagnostische en therapeutische beslissingen, dienen de resultaten van elke diagnostische test te worden ondersteund met andere klinisch relevante data.

11. VERWACHTE WAARDEN

Vanwege etnische-, dieet- en leeftijdsvariates kunnen de gegeven referentiewaarden niet worden toegepast voor alle populaties. Daarom dient elk laboratorium zijn eigen representatieve referentiewaarden vast te stellen.

ICTP-waarden van blijkbaar gezonde volwassenen (19 – 74 jaar) werden gemeten met de ICTP RIA kit De niet-parametrische methode, aanbevolen door IFCC, werd gebruikt om de referentie-intervallen te berekenen voor zowel de hoge en lage referentiewaarden.

Tabel 2 Serum ICTP referentiewaarden

	Vrouw	Man
Aantal monsters	146	125
Gemiddeld	3.5 µg/L	3.2 µg/L
Referentie- interval*	2.1–5.6 µg/L	2.1–5.0 µg/L
0.90-betrouwbaarheidsinterval voor lage referentiewaarden	2.1–2.4 µg/L	1.9–2.2 µg/L
voor hoge referentiewaarden	4.9–6.2 µg/L	4.4–5.7 µg/L

*Referentie-interval = 0.025 & 0.975 percentiel

ICTP-waarden van kinderen werden verkregen uit een populatie van gezonde kinderen in de leeftijd van 0 maanden tot 18 jaar (niet gepubliceerde data) De waarden zijn slechts indicatief.

Tabel 3 Typische serum ICTP-waarden voor kinderen

Leeftijdsgroepen		Ondergrens (µg/L)	Gemidd. (µg/L)	Bovengrens (µg/L)
Jongens en meisjes	0–3 maanden	51	61	71
	3–6 maanden	23	32	40
	6–12 maanden	15	22	30
	1–2 jaar	12	16	20
	2–9 jaar	7	11	16
Jongens	9–13 jaar	8	11	15
	13–16 jaar	10	16	23
	16–18 jaar	8	9	11
Meisjes	9–11 jaar	9	12	15
	11–14 jaar	10	13	16
	14–16 jaar	6	10	14
	16–18 jaar	4	5	7

12. TESTKARAKTERISTIEKEN

Onderstaande resultaten zijn verkregen bij Aidian en representeren typische testdata.

Meetrange

1.0–50 µg/L.

Detectie limiet

Beter dan 0.6 µg/l.

Kwantificatie limiet

Ongeveer 1.8 µg/L.

Lineariteit

Vijf serummonsters met hoge concentraties werden serieel verdund met vijf serummonsters met een lage concentratie. De gemiddelde recovery van de monsters was 102 %.

Recovery

Bekende hoeveelheden ICTP werden toegevoegd aan drie patiënt-serummonsters met een lage concentratie. De gemiddelde recovery was 109 %.

Precisie

De intra- en inter-assay variaties werden bepaald door serumpools te gebruiken die verschillende concentraties ICTP bevatten.

Tabel 4 Intra-assay / Inter-assay precisie

Intra-assay precisie van 20 replicaten			Inter-assay precisie van 10 duplobepalingen		
Monster	Gemidd. (µg/L)	CV (%)	Monster	Gemidd. (µg/L)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Interfererende substanties

Een serum bilirubine concentratie < 400 µmol/L interfereert niet met de bepaling. Serum haemoglobine-concentraties tot 5 g/L of triglycerides <5 g/L interfereren niet met de bepaling.

Specificiteit

De antigene determinant van het antilichaam bevindt zich tussen de twee hydrofobe phenylalanine-rijke sequenties van het trivalente cross-linked ICTP. Een trivalente cross-link is noodzakelijk omdat de bivalente en monomeer ge-cross-linkte peptides alleen een phenylalanine-rijke sequentie bevatten en een slechte immunoreactie tonen. Het ICTP RIA antiserum kruisreageert niet met antigenen die ook in andere UniQ collageen-bepalingen worden gebruikt.

13. TRACEERBAARHEID

Het te meten analyte in de UniQ ICTP RIA kalibratoren is traceerbaar in de werkstandaarden van de producent, deze zijn bereid uit hoog zuiver ICTP, de waarden hiervan zijn vastgesteld met behulp van de analyse van aminozuur-samenstellingen.

14. VERWIJDERING

- Verwijdering van de inhoud van de kit volgens nationale en lokale wetgevingen.
- Alle patiëntenmonsters en controles moeten worden behandeld en afgevoerd als potentieel infectieus materiaal.
- Radioactief afval dient te worden weggegooid volgens de voorgeschreven wetgevingen.
- Materialen van de kitcomponenten:
 - Papier: Gebruiksaanwijzingen
 - Karton: Kitdoos
 - Plastic: Scheidingsreagens flacon, buisdoppen
 - Rubber: Stoppen
 - Glas: Flacons van tracer, antiserum, kalibratoren en controle
 - Foamrubber
- Bij gebruik volgens Good Laboratory Practice (GLP) , in acht neming van goede hygiëne en opvolgen van de gebruiksaanwijzingen, vormen de geleverde reagentia geen gevaar voor de gezondheid.

UniQ® ICTP RIA

Kit para la medición del telopeptido C-terminal del colágeno de tipo 1 (ICTP) por radioinmunoensayo

1. APLICACIÓN

UniQ ICTP RIA es un radioinmunoensayo diseñado para la medición de la concentración del telopeptido carboxiterminal de enlace cruzado del colágeno tipo 1 en suero humano.

Para uso en diagnóstico *in Vitro*.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El colágeno tipo I es el tipo de colágeno que más abunda en el cuerpo y el único tipo de colágeno presente en el hueso mineralizado, donde representa más del 90 % de la matriz orgánica. Además, el colágeno tipo I se encuentra en los tejidos conjuntivos laxos, junto con otros tipos de colágeno, como los tipos III, V y VI. En estas ubicaciones también predomina el colágeno tipo I.

En los tejidos, el colágeno tipo I está presente en las fibras, cuya estructura muestra algunas variaciones en función del tejido. En los huesos, las moléculas de colágeno están en forma de enlace cruzado mediante tres residuos de hidroxilisina, lisina o sus derivados, que forman una estructura fluorescente de piridinolina cíclica y estructuras no fluorescentes desconocidas que unen entre sí tres cadenas polipeptídicas de colágeno diferentes. En los tejidos conjuntivos laxos, como la piel, el principal enlace cruzado maduro del colágeno tipo I es no fluorescente y contiene histidina como uno de los residuos de los aminoácidos.

ICTP es la región carboxiterminal del telopeptido del colágeno tipo I, unida mediante enlaces cruzados trivalentes y liberada durante la degradación del colágeno tipo I maduro. Este péptido se encuentra en una forma inmunoquímicamente intacta en sangre, donde parece derivarse de la resorción ósea y la degradación de tejidos conjuntivos laxos. Recientemente se ha constatado que el antígeno del ICTP se produce a través de la acción de, por ejemplo, metaloproteinasas de la matriz, que son enzimas que participan en la destrucción del tejido en varias patologías.

Por lo tanto, los niveles incrementados de ICTP en suero se ven en trastornos asociados al incremento de la lisis ósea, tales como el mieloma simple, las metástasis osteolíticas, la artritis reumatoide y, por ejemplo, la inmovilización. Puesto que el ICTP no se produce en la resorción ósea fisiológica mediada por catepsina-K, su concentración se ve menos afectada, por ejemplo, por la menopausia.

3. PRINCIPIOS DE LA PRUEBA

El kit UniQ ICTP RIA se basa en el principio del radioinmunoensayo competitivo. Una cantidad conocida de ICTP marcada radiactivamente y una cantidad desconocida de ICTP no marcada de la muestra compiten por una cantidad de lugares de fijación de alta afinidad del anticuerpo. Después de separar el antígeno libre, la cantidad de ICTP marcada en el tubo de la muestra es inversamente proporcional a la cantidad de ICTP contenida en la muestra. Las concentraciones en muestras desconocidas se obtienen a partir de una curva de calibración.

4. REACTIVOS

UniQ® ICTP RIA, Cat. No. 68601

Nombre y origen del componente	Símbolo	 100	Estabilidad entre 2...8°C	
			Sin abrir	Abierto
Trazador	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioactividad < 200 kBq	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	6 semanas
Antisuero ORIG RAB	Ab	22 ml	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	6 semanas
Calibrador	CAL xxµg/l	7 x 0.75 ml	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	6 semanas
Control ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	1 semana después de la reconstitución
Reactivo de separación ICTP RIA	REAG SEPAR	60 ml	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	6 semanas
Instrucciones de uso				

Los reactivos contienen azida sódica como conservante, véase el apartado 5 "Advertencias y Precauciones".

Preparación de los reactivos

Los controles están liofilizados. Todos los demás reactivos están listos para usar.

Esperar a que los viales de control se encuentren a temperatura ambiente (18...25°C) antes de abrirlos. Reconstituir los controles añadiendo 1,0 ml de agua destilada o desionizada a cada vial. Tapar y mezclar a fondo arremolinando o invirtiendo los viales suavemente para evitar que se produzca espuma. Dejarlos reposar 30 minutos antes de utilizarlos.

Deterioro de los reactivos

Las alteraciones en el aspecto físico de los reactivos o en la pendiente de la curva de calibración, o unos valores del suero de control fuera del rango aceptado por el fabricante pueden indicar una posible inestabilidad del reactivo. No utilizar los reactivos si se sospecha que existe un deterioramiento del reactivo.

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Información de seguridad y salud

- Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.
- No pipetear con la boca.
- Todas las muestras de pacientes y todos los controles se deben manejar como material potencialmente infeccioso.
- Los controles contienen material de origen humano, que se ha analizado y ha dado un resultado negativo para anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), virus de la hepatitis C (VHC) y antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB). Como precaución, manejar los controles como si tuviera la posibilidad de transmitir agentes infecciosos.

- Los reactivos liofilizados contienen azida sódica en una concentración de < 1% (Acuático crónico. 3). Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos (H412). En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos (EUH032). Evitar su liberación al medio ambiente (P273). Eliminar el contenido de acuerdo con la legislación nacional y local (P501). Las azidas pueden reaccionar con las cañerías metálicas, formando compuestos explosivos. La formación de compuestos de azida puede evitarse aclarando con agua abundante al desechar los reactivos.
- Los reactivos reconstituidos y los reactivos líquidos contienen azida sódica en una concentración del < 0,1%, que no se considera perjudicial.
- El kit contiene ^{125}I (caducidad media $T_{1/2}$ de 60 días) que emite rayos gamma de 35,5 keV y rayos X de 27–32 keV. El material radioactivo que se incluye en este kit solo lo pueden recibir, adquirir, poseer y utilizar médicos, laboratorios clínicos, instituciones de investigación u hospitales y solo se puede utilizar para pruebas clínicas in vitro o pruebas de laboratorio que no impliquen la administración interna o externa del material, o la radiación del mismo a seres humanos o animales. Todos los materiales radioactivos solo deben almacenarse y manipularse en las áreas especialmente designadas. La adquisición, almacenamiento, uso o intercambio de productos radioactivos está sujeto a las leyes en vigor en el país del usuario.
- Evitar el contacto con ojos y piel. Tras el contacto con la piel, lavar la zona inmediatamente con agua abundante y descontaminar siguiendo las directrices para derrames.
- Los vertidos de materiales radioactivos deben limpiarse de inmediato con detergente y los materiales de limpieza contaminados se transferirán al contenedor de residuos radiactivos o se manipularán según las recomendaciones de la oficina de seguridad sobre radiación.
- Los materiales de residuos radioactivos deben eliminarse según las leyes aplicables. Consultar las normativas de radiación y los procedimientos aplicables en la institución sobre la manipulación, el almacenamiento y la eliminación de los materiales radioactivos.

Precauciones analíticas

- No utilizar el producto después de la fecha de caducidad indicada en el envase exterior.
- No superar los periodos de estabilidad de los reactivos abiertos.
- No mezclar componentes de diferentes números de lotes o ensayos.

6. RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

No es necesaria ninguna preparación especial del paciente antes de la obtención de la muestra.

Debe utilizarse suero, y debe recolectarse una muestra de sangre venosa utilizando una técnica médica aceptable, siguiendo las precauciones normales en recolecciones por venipuntura. No se debe utilizar este ensayo con muestras de plasma.

Deben evitarse las muestras de paciente altamente lipémicas, hemolizadas o contaminadas microbiológicamente.

Manipulación y almacenamiento de la muestra

Después de la obtención de la muestra, permitir que la sangre se coagule y separar el suero por centrifugación. Las muestras de suero se pueden conservar a 2...8°C hasta 5 días o durante periodos más largos se puede almacenar a -20°C o inferior. Se debe evitar congelar y descongelar repetidamente las muestras.

Las muestras con concentraciones elevadas de ICTP pueden diluirse utilizando salino al 0,9%.

7. PROCEDIMIENTO

Consulte el apartado 4 "Reactivos", para obtener una lista de los reactivos.

Materiales necesarios pero no suministrados

- Pipetas (100 µl, 200 µl, 500 µl y 1000 µl)
- Tubos de la prueba (poliestireno)
- Papel absorbente
- Película de parafina
- Agitador
- Baño de agua (capaz de mantener $37 \pm 1^\circ\text{C}$)
- Gradilla
- Centrífuga (capaz de girar a pos lo menos 2000 g)
- Contador gamma
- Agua destilada

Instrumentos

Se puede utilizar cualquier contador gamma que mida I^{-125} . Se debería evaluar regularmente la eficacia del instrumento, así como su historia de contajes. Se recomienda calibrar el instrumento sistemáticamente. Para detalles sobre la instalación, el uso, el mantenimiento y la calibración del instrumento, consultar el manual de instrucciones suministrado por el fabricante.

Detalles del procedimiento

1	Esperar a que todos los reactivos, los controles y las muestras se pongan a temperatura ambiente ($18...25^\circ\text{C}$) por lo menos 30 minutos antes de usarlos.
2	Etiquetar los tubos por duplicado para el NSB (fijación no-específica), los calibradores, los controles, las muestras del paciente y los totales.
3	Pipetear 100 µl del calibrador, el control y la muestra del paciente en los tubos correspondientes. Pipetear cualquier muestra de paciente en los tubos NSB.
4	Pipetear 200 µl del trazador (rojo) en todos los tubos.
5	Pipetear 200 µl del antisuero (azul) en todos los tubos exceptuando los NSB y los totales. Pipetear 200 µl de agua destilada en los tubos NSB.
6	Mezclar todos los tubos en un agitador, cubrir con película de parafina e incubarlos durante 2 horas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
7	Mezclar bien el reactivo de separación invirtiendo el tubo suavemente y añadir 500 µl a todos los tubos exceptuando los totales.
8	Mezclar los tubos utilizando el agitador e incubarlos durante 30 minutos a temperatura ambiente.
9	Centrifugar todos los tubos exceptuando los totales durante 30 minutos a $2000 \times g$ (como mínimo) a $4...20^\circ\text{C}$ (se recomienda a 4°C).
10	Decantar los sobrenadantes de todos los tubos excepto las Cuentas Totales mediante su inversión simultánea. Golpear suavemente los tubos contra un material absorbente y dejar que se escurra durante unos segundos para retirar todo el líquido restante. Tener cuidado en no decantar el precipitado. No volver a invertir los tubos después de reponerlos derechos. Una decantación o escurrido defectuoso de los tubos puede resultar en una replicación baja y en valores erróneas.
11	Medir la radiactividad utilizando un contador gamma durante por lo menos 1 minuto o hasta que se acumulen 10.000 cuentas por tubo.
12	Calcular los resultados tal como se describe en la sección "Interpretación de los resultados"

Procedimiento de la prueba – resumen

(todos los volúmenes se facilitan en µl)

	Total	NSB	Calibrador	Control & muestra
Pipetear la muestra		100	100	100
Pipetear el trazador (rojo)	200	200	200	200
Pipetear el antisuero (azul)			200	200
Pipetear el agua destilada		200		
Mezclar		x	x	x
Incubar 2h a 37°C		x	x	x
Pipetear el reactivo de separación		500	500	500
Mezclar		x	x	x
Incubar 30 min a 18...25°C		x	x	x
Centrifugar 30 min. / 2000 g		x	x	x
Decantar		x	x	x
Contar durante 1 min o 10.000 cuentas	x	x	x	x

8. CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda a todos los laboratorios clínicos aplicar un control de calidad interno, por lo que se sugiere analizar los sueros de control tanto en la fracción superior como en la inferior del rango de referencia para monitorizar el rendimiento del procedimiento. El ensayo UniQ ICTP proporciona dos materiales de control: los controles UniQ ICTP 1 y 2. Los rangos esperados de los controles se indican en una hoja aparte proporcionada con el ensayo. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios rangos aceptables para los controles utilizados en ese laboratorio. La media de control debería caer dentro del rango aceptable fijado por el fabricante. Se recomienda utilizar por lo menos kits de dos lotes distintos para asignar el valor del control. Una vez que se han establecido los rangos de control, deben realizarse los controles por duplicado en cada ensayo.

9. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Para procesar los resultados automáticamente, se recomienda ajustarlos a una curva de función "spine". Los resultados también se pueden obtener manualmente utilizando un papel semilogarítmico.

- Calcular la media de las cuentas para todos los calibradores, las muestras y los controles.
- Calcular el %B/B₀ a partir de:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{cuentas del calibrador o de la muestra} - \text{NSB}}{\text{cuentas del calibrador} - \text{NSB}} \times 100$$

donde B es la radiactividad fijada de una muestra o un calibrador, B₀ es la radiactividad fijada del calibrador 0 y NSB es la radiactividad de la fijación no específica.

- **Trazar** una curva de calibración sobre papel semilogarítmico representando en el eje de ordenadas (eje y) los valores de %B/B₀, y en el eje de abscisas (eje x) las concentraciones de ICTP (µg/l) de los calibradores.

- **Determinar** las concentraciones de ICTP de los valores desconocidos en la curva de calibración.
 - **Cualquier muestra con una lectura que no alcance al calibrador inferior debe informarse como tal.**
 - **Cualquier muestra con una lectura que supere al calibrador superior debe diluirse y ser reanalizada.**
- Después de la dilución, los valores deben corregirse para contabilizar el factor de dilución.

Figura 1 Curva de calibración típica.
Esta curva sirve solamente como ilustración.

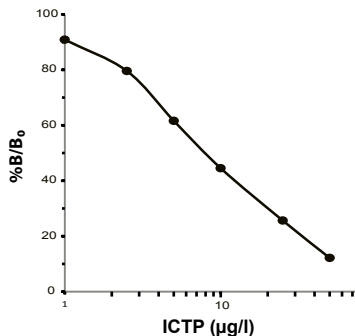


Tabla 1 Cálculo de resultados utilizando datos típicos. Esta curva sirve solamente como ilustración y no debe utilizarse para el cálculo de ningún resultado de la muestra.

Tubo	Media cpm	cpm-NSB	%B/B ₀	ICTP (µg/l)
Total	39445			
NSB	1397			
Cal 0	17333	15936		
Cal 1.0	15875	14478	90.9	
Cal 2.5	14078	12681	79.6	
Cal 5.0	11215	9818	61.6	
Cal 10	8489	7092	44.5	
Cal 25	5482	4085	25.6	
Cal 50	3334	1937	12.2	
Desc	9494	8097	50.8	7.6
Desc	6046	4649	29.2	20.9

10. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Existe una variación diurna en los valores de ICTP, los cuales ascienden durante la noche. La insuficiencia renal y las tasas de filtración glomerular de 50 ml/min/1,73 m² o inferiores se asocian a concentraciones elevadas de ICTP en sangre. El hígado no parece estar implicado en el metabolismo del antígeno del ICTP sérico. Para tomar decisiones diagnósticas y terapéuticas, los resultados sobre los niveles de ICTP deben cotejarse con otros datos clínicamente relevantes.

11. VALORES ESPERADOS

Debido a las variaciones étnicas, dietéticas y relacionadas con la edad, los límites de referencia suministrados pueden no ser aplicables a todas las poblaciones. Por ello, cada laboratorio debería establecer sus propios límites de referencia representativos.

Se midieron los niveles de ICTP de sujetos aparentemente sanos (19–74 años) utilizando el Kit ICTP RIA. Se utilizó el método no paramétrico recomendado por el IFCC para calcular los intervalos de referencia de los límites superior e inferior.

Tabla 2 Límites de referencia del ICTP sérico

	Mujeres	Hombres
Número de sujetos	146	125
Media	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Intervalo de referencia*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
0,90-intervalos de confianza para el límite de referencia inferior	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
para el límite de referencia superior	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

* Intervalo de referencia = fractiles 0,025 y 0,975

Los valores de ICTP en niños fueron obtenidos a partir de una población sana con edades comprendidas entre 0 meses y 18 años (datos no publicados). Los valores sólo son orientativos.

Tabla 3 Valores de referencia del ICTP sérico en jóvenes.

Grupos por edad		Límite inferior (µg/l)	Media (µg/l)	Límite superior (µg/l)
Chicos y chicas	0–3 meses	51	61	71
	3–6 meses	23	32	40
	6–12 meses	15	22	30
	1–2 años	12	16	20
	2–9 años	7	11	16
Boys	9–13 años	8	11	15
	13–16 años	10	16	23
	16–18 años	8	9	11
Girls	9–11 años	9	12	15
	11–14 años	10	13	16
	14–16 años	6	10	14
	16–18 años	4	5	7

12. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Los resultados que se presentan a continuación han sido obtenidos por Aidian y representan los datos de funcionamiento usuales.

Rango de medición

1,0–50 µg/l.

Límite de detección

Mejor que 0.6 µg/l.

Límite de cuantificación

Aproximadamente 1.8 µg/l.

Linealidad

Cinco muestras de suero de alta concentración se diluyeron en serie con cinco muestras de suero de baja concentración. La recuperación promedio era de 102 %.

Recuperación

Se añadieron cantidades conocidas de ICTP a tres muestras de suero de pacientes de baja concentración. La recuperación promedio fue de 109%.

Precisión

Se evaluaron varias mezclas de suero de distintas concentraciones de ICTP para determinar la variación intra e inter-ensayo.

Tabla 4 Precisión intra-ensayo / Precisión inter-ensayo

Precisión intra-ensayo de 20 réplicas			Precisión inter-ensayode 10 determinaciones duplicadas		
Muestra	Media (µg/l)	CV (%)	Muestra	Media (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Sustancias que interfieren

Las concentraciones de bilirubina en suero < 400 µmol/l no interfieren. Las concentraciones de hemoglobina en suero hasta 5 g/l no interfieren. Triglicéridos < 5 g/l no interfieren. No se recomienda utilizar muestras muy lipémicas.

Especificidad

El determinante antigénico del anticuerpo está dentro de las dos secuencias hidrofóbicas ricas en fenilalanina del ICTP de enlace cruzado de forma trivalente. Es necesario un enlace cruzado trivalente, pues los enlaces cruzados bivalentes y los péptidos monoméricos que contienen solamente una secuencia rica en fenilalanina muestran una inmunoreacción insuficiente. El anticuerpodel ICTP RIA no presenta reacción cruzada con los antígenos utilizados en el resto de los ensayos UniQ Colágenos.

13. TRAZABILIDAD

El antígeno en los calibradores RIA ICTP UniQ se puede trazar en conformidad con los calibradores funcionales del fabricante, que están elaborados con ICTP altamente purificado con un valor asignado mediante análisis de composición de aminoácidos.

14. ELIMINACIÓN DE DESECHOS

- Eliminar el contenido en de acuerdo con la legislación nacional y local.
- Todas las muestras de pacientes y todos los controles se deben manejar como material potencialmente infeccioso.
- Los materiales de residuos radioactivos deben eliminarse según las leyes aplicables.
- Materiales de los componentes:
 - Papel: instrucciones de uso
 - Cartón: caja del kit
 - Plástico: botella del reactivo de separación, tapas de frascos
 - Caucho: tapones
 - Vidrio: frascos de trazador, antisuero, calibrador, control
 - Gomaespuma
- Utilizados de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, una higiene laboral correcta y estas instrucciones de uso, los reactivos suministrados no deben suponer un peligro para la salud.

UniQ® ICTP RIA

Kit para la medición del telopeptido C-terminal del colágeno de tipo 1 por radioinmunoensayo

1. USO DEL KIT

Il kit UniQ ICTP RIA è un test radioimmunologico per la determinazione quantitativa del telopeptide carbossiterminale del collagene di Tipo I nel siero umano. **Per uso diagnostico *in vitro*.**

2. SOMMARIO E SPIEGAZIONI

Nel corpo umano il collagene più diffuso è quello di Tipo I, ed è l'unico tipo di collagene presente nell'osso mineralizzato, costituendo circa il 90 % della matrice organica. Il collagene di Tipo I è presente anche nei tessuti connettivi insieme ad altri tipi di collagene come il III, il V ed il VI. Anche in questi tessuti, il Tipo I rappresenta la quota più importante.

Il Collagene di Tipo I presente nei tessuti è localizzato nelle fibrille, la cui struttura varia a seconda delle tipologie del tessuto. Nell'osso le molecole sono legate fra loro attraverso tre residui di idrossilisina, lisina e loro derivati, i quali formano una struttura piridinolinica ciclica fluorescente ed una non fluorescente sconosciuta in grado di legare insieme tre differenti catene polipeptidiche di collagene. Nei tessuti connettivi liberi, come ad esempio la pelle, la maggior parte di collagene di Tipo I è non fluorescente e contiene istidina come amminoacido residuo.

L'ICTP è la regione C Terminale (Telopeptide) del Collagene di Tipo I e viene liberato durante il processo di degradazione del Collagene di Tipo I (1). Questo peptide è stato trovato nel sangue in una forma immunochimicamente intatta, quale prodotto del processo del riassorbimento osseo. E' stato recentemente dimostrato che l'ICTP è prodotto attraverso l'azione di composti quali ad esempio le metalloproteinasi, i quali sono enzimi coinvolti nella distruzione tissutale in varie condizioni patologiche.

Incrementi delle concentrazioni sieriche dell'ICTP sono stati associati a condizioni di aumentata lisi ossea, come nel mieloma multiplo, nelle metastasi osteolitiche, nelle artriti reumatoidi e nell'immobilizzazione. Poiché l'ICTP non è prodotto fisiologicamente attraverso il riassorbimento osseo mediato da Catepsina-K, la sua concentrazione è poco influenzata ad esempio dalla menopausa.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il kit UniQ ICTP RIA è un test basato su una tecnica radioimmunologica competitiva. In pratica una quantità conosciuta di ICTP marcato e non marcato sono messi in competizione per un numero limitato di siti anticorpali con elevata affinità legante. Dopo l'eliminazione dell'antigene in eccesso, la quantità di ICTP marcato è inversamente proporzionale alla quantità di ICTP presente nel campione. Le concentrazioni di campioni sconosciuti sono ottenute da una curva di calibrazione.

4. REATTIVI

UniQ® ICTP RIA, Cat. N. 68601

Nome del componente e l'origine	Simbol	 100	Stabilità a 2...8°C	
			Non aperto	Aperto
Marcato	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioattività < 200 kBq	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	6 settimane
Anticorpo ORIG RAB	Ab	22 ml	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	6 settimane
Calibratore	CAL xx µg/l	7 x 0.75 ml	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	6 settimane
Controllo ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	1 settimana dopo la ricostituzione
Reattivo di separazione ICTP RIA	REAG SEPAR	60 ml	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	6 settimane
Istruzioni per l'uso				

I reagenti contengono sodio azide come conservante, consultare il capitolo 5 "Avvertenze e le Precauzioni".

Preparazione dei reagenti

I controlli sono liofilizzati. Tutti gli altri reagenti sono pronti all'uso.

Permettere ai flaconi dei controlli di raggiungere l'equilibrio a temperatura ambiente (18...25°C) prima di aprirli. Ricostituire i controlli aggiungendo 1,0 mL di acqua distillata ad entrambi i flaconi. Tappare e agitare bene per inversione evitando la formazione di schiuma. Attendere 30 minuti prima di utilizzare i controlli ricostituiti.

Deterioramento dei reagenti

Alterazioni nell'aspetto fisico dei reagenti o nella pendenza della curva di calibrazione, o valori dei sieri di controllo al di fuori dell'intervallo accettabile fornito dal produttore possono essere indicatori di instabilità del reagente. Non utilizzare i reagenti se si sospetta deterioramento del reagente.

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Informazioni sulla salute e la sicurezza

- Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- Non pipettare con la bocca.
- Tutti i campioni dei pazienti e i controlli devono essere manipolati come materiali potenzialmente infetti.
- I controlli contengono materiale di origine umana, testato e riscontrato negativo agli anticorpi del virus dell'immunodeficienza umana (HIV 1 e 2), al virus dell'epatite (HCV) e all'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg). A scopo cautelativo, manipolare i controlli come materiale potenzialmente infetto.

- I reagenti liofilizzati contengono una concentrazione di sodio azide pari al < 1% (Aquatic Chronic 3). Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata (H412). A contatto con acidi libera gas molto tossici (EUH032). Non disperdere nell'ambiente (P273). Smaltire il prodotto in conformità alla regolamentazione nazionale e locale (P501). Le azidi possono reagire con le tubature metalliche formando composti esplosivi. L'accumulo di azide può essere evitato effettuando un abbondante risciacquo con acqua prima di smaltire i reagenti.
- I reagenti liquidi e ricostituiti contengono sodio azide < 0,1%, concentrazione che non è considerata pericolosa.
- Il kit contiene ^{125}I (emivita $t_{1/2} = 60$ giorni) emittente raggi gamma (35,5 keV) e raggi X (27-32 keV). Il materiale radioattivo contenuto in questo kit può essere ricevuto, acquisito, posseduto e utilizzato esclusivamente da medici, laboratori clinici, istituti di ricerca od ospedali e può essere utilizzato esclusivamente per test in vitro clinici e di laboratorio che non implicino un'amministrazione interna o esterna del materiale né la radiazione da esso derivante per essere umani e animali. Tutti i materiali radioattivi devono essere conservati e manipolati esclusivamente in aree appositamente designate. L'acquisto, la conservazione, l'uso o lo scambio di prodotti radioattivi è soggetto alle leggi vigenti nel paese dell'utente.
- Evitare il contatto con la pelle e con gli occhi. In caso di contatto con la pelle, lavare immediatamente con abbondante acqua e decontaminare, seguendo le linee guida dei vostri istituti in caso di contattato accidentale.
- Fuoriuscite di materiali radioattivi devono essere pulite immediatamente con un detergente e i materiali contaminati usati per la pulizia devono essere eliminati nel contenitore di rifiuti radioattivi o manipolati in conformità alle raccomandazioni dell'ufficio incaricato della protezione dalle radiazioni.
- I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti in conformità alle leggi applicabili. Per la manipolazione, la conservazione e lo smaltimento dei materiali radioattivi, fare riferimento alle norme e alle procedure relative alle radiazioni applicabili al proprio istituto.

Precauzioni analitiche

- Non utilizzare il prodotto dopo la data di scadenza indicata sull'esterno della confezione.
- Non superare i periodi di stabilità dei reagenti aperti.
- Non mischiare componenti di numeri di lotto o test differenti.

6. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Non è richiesta alcuna speciale preparazione del paziente prima della raccolta del campione.

Utilizzare campioni di siero ottenuti da normali prelievi venosi utilizzando una tecnica medica accettabile, seguendo le normali precauzioni per il prelievo venoso. Questo test non usa campioni di plasma. Evitare di testare sieri fortemente lipemici, emolizzati o contaminati microbiologicamente.

Manipolazione e conservazione dei campioni

Utilizzare campioni di siero ottenuti da prelievo di sangue venoso periferico e separando il siero per mezzo di centrifugazione. I campioni possono essere conservati, fino a 5 giorni a 2...8°C o, suddivisi in aliquote, a -20°C per periodi più lunghi. Evitare ripetuti cicli di congelamento – scongelamento dei campioni.

Campioni con elevate concentrazioni di ICTP devono essere diluiti con fisiologica (NaCl 0,9%).

7. PROCEDURA

Consultare il capitolo 4 "Reattivi".

Materiale richiesto ma non fornito

- Pipette (100 µl, 200 µl, 500 µl and 1000 µl)
- Test per test (polistirene)
- Carta assorbente
- Parafilm
- Mixer Vortex
- Bagno d'acqua (capace di mantenere 37 ±1°C)
- Decanting rack
- Supporto per decantazione (capacità di almeno 2000 g)
- Gamma counter
- Acqua distillata

Strumentazione

Ogni gamma counter in grado di misurare I¹²⁵ può essere utilizzato. L'efficienza del conteggio dello strumento dovrebbe essere regolarmente controllata. E' raccomandato calibrare lo strumento sistematicamente. Consultare il manuale operativo fornito dal costruttore dello strumento per i dettagli per l'installazione, l'utilizzo, la manutenzione e la calibrazione.

Dettagli della procedura

1	Portare tutti i reagenti, i controlli e i campioni a temperatura ambiente (18...25°C) almeno 30 minuti prima dell'uso.
2	Etichettare i tubi in duplicato per NSB (non-specific binding), i calibratori, i controlli e i campioni dei pazienti.
3	Pipettare 100 µl di calibratore, controllo o campione del paziente in appropriati tubi. Ogni campione del paziente può essere pipettato nei tubi con NSB.
4	Pipettare 200 µl di reagente ICTP marcato in ogni tubo.
5	Pipettare 200 µl di antisiero anti-ICTP in tutti i tubi tranne quelli con NSB e quelli per la conta totale. Pipettare 200 µl di acqua distillata nei tubi con NBS.
6	Agitare, tappare con parafilm e incubare a 37 ±1°C per due ore.
7	Aggiungere 500 µl di reagente separatore in tutti i tubi tranne quelli per la conta totale. Miscelare per inversione.
8	Agitare i tubi con un mixer e incubare per 30 minuti a temperatura ambiente.
9	Centrifugare i tubi per 30 minuti a 2000 giri/min ad una temperatura tra i 4°C e i 20°C (sono consigliati i 4°C).
10	Decantare tramite inversione simultanea i supernatanti da tutti i tubi tranne le conte totali. Asciugare i tubi picchiettandoli gentilmente su materiale assorbente e lasciare scolare per alcuni secondi per eliminare tutto il liquido rimanente. Fare attenzione a non decantare il precipitato. La non esecuzione corretta di questa fase può determinare scarsa riproducibilità e valori erronei. Una volta rimessi i tubi nella posizione iniziale, evitare di invertirli nuovamente.
11	Contare la radioattività residua dell'anticorpo legato di ogni tubo per almeno 1 minuto o fino ad aver accumulato 10 000 conte per tubo.
12	Calcolare i risultati come descritto nel paragrafo "Calcolo dei risultati".

Procedura del test – Sommario

(tutti I volumi sono in µl)

	Totale	NSB	Calibratore	Controllo & campione
Pipettare campione		100	100	100
Pipettare tracciante (rosso)	200	200	200	200
Pipettare antisiero (blu)			200	200
Pipettare acqua distillata		200		
Agitare		x	x	x
Incubare 2 ore a 37°C		x	x	x
Pipettare reagente di separazione		500	500	500
Agitare		x	x	x
Incubare per 30 minuti a 18...25°C		x	x	x
Centrifugare per 30 minuti / 2000 g		x	x	x
Decantare		x	x	x
Contare per 1 minuto o 10 000 conte	x	x	x	x

8. CONTROLLO DI QUALITÀ

Un programma interno di controllo di qualità è raccomandato per tutti i laboratori. Per questo motivo è suggerito che controlli di siero sia a concentrazioni basse e alte da utilizzarsi della curva di calibrazioni siano analizzati in modo da monitorare le performance della procedura analitica.

Il kit UNIQ ICTP RIA fornisce due controlli: ICTP RIA Control 1 & 2. I valori di attesi dei controlli sono riportati sul foglio del controllo di qualità fornito con il kit.

E' raccomandabile che ogni laboratorio stabilisca i propri valori di riferimento per i controlli utilizzati. La media dei valori dei controlli dovrebbe cadere all'interno di tale intervallo stabilito da Aidian. Si consiglia di utilizzare almeno due numeri di lotto diversi per stabilire i valori di riferimento dei controlli. Una volta stabiliti gli intervalli di controllo, i controlli devono essere eseguiti in doppio con ogni test.

9. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

Si raccomanda l'utilizzo di una curva spline cubica in scala semi-logaritmica.

Se si usa un metodo computerizzato per l'elaborazione dei dati, scegliere l'interpolazione Spline; è comunque possibile interpolare manualmente i dati usando una carta da grafico semilogaritmica.

- **Calcolare** la media della conta di tutti i calibratori, dei campioni e dei controlli.
- **Calcolare** la %B/B₀ da:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{conta calibratore o campione} - \text{NSB}}{0\text{-conta calibratore} - \text{NSB}} \times 100$$

dove B è il legame di radioattività di un campione o di un calibratore, B₀ è il legame di radioattività del calibratore 0 e NSB è la radioattività di un legame non specifico.

- **Disegnare** una curva su carta semilogaritmica con i valori di B/B_0 % in ordinate e le concentrazioni di ICTP ($\mu\text{g/l}$) dei calibratori in ascisse.
- **Leggere** le concentrazioni di ICTP di controlli e campioni dalla curva di calibrazione.
- **Ogni campione a concentrazione inferiore a quelli del calibratore a più bassa concentrazione deve essere riportato come a concentrazione inferiore alla concentrazione del calibratore.**
- **Ogni campione a concentrazione superiore del calibratore a più alta concentrazione, deve essere diluito e ridosato.** Moltiplicare i risultati ottenuti per il fattore di diluizione utilizzato.

Fig. 1 Tipica curva di calibrazione.

Questa curva è solo per uso illustrativo.

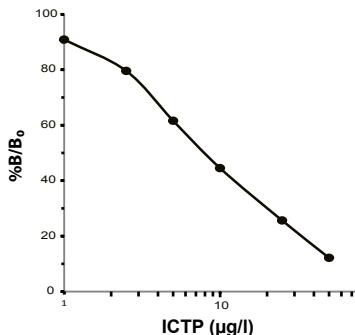


Tabella 1 Calcolo dei risultati usando dati tipici.

Questi dati sono solo per uso illustrativo e non devono essere utilizzati per il calcolo di alcun risultato dei campioni.

Provetta	media cpm	cpm-NSB	%B/B ₀	ICTP ($\mu\text{g/l}$)
Total	39445			
NSB	1397			
Cal 0	17333	15936		
Cal 1.0	15875	14478	90.9	
Cal 2.5	14078	12681	79.6	
Cal 5.0	11215	9818	61.6	
Cal 10	8489	7092	44.5	
Cal 25	5482	4085	25.6	
Cal 50	3334	1937	12.2	
Campione 1	9494	8097	50.8	7.6
Campione 2	6046	4649	29.2	20.9

10. LIMITI DEL METODO

Esiste una variazione diurna dei valori di ICTP che raggiungono le concentrazioni più elevate durante la notte. Insufficienza renale, una velocità di filtrazione renale di $50 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ o meno induce elevate concentrazioni di ICTP nel sangue. Il fegato sembra non essere implicato nel metabolismo dell'ICTP.

Per ogni decisione diagnostica e clinica i risultati di ICTP devono essere confrontati con altri dati clinicamente rilevanti.

11. VALORI DI RIFERIMENTO

A causa della diversità etnica, della dieta e delle variazioni dell'età, gli intervalli di normalità non possono essere applicati a tutte le popolazioni. Quindi ogni laboratorio dovrebbe produrre i propri intervalli.

I valori di ICTP in adulti apparentemente sani (19–74 anni) sono stati misurati con il kit ICTP RIA. Il metodo non parametrico raccomandato dalla IFCC è stato utilizzato per calcolare gli intervalli di riferimento sia quello basso che quello alto.

Tabella 2 Intervalli di riferimento dell'ICTP serico

	Femmine	Maschi
Numero dei soggetti	146	125
Media	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Intervallo di riferimento*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
0.90-intervalli di confidenza per il limite inferiore	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
per il limite superiore	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

*Intervalli di riferimento = 0,025 & 0,975 percentili

I valori dell'ICTP per i bambini sono stati ottenuti da una popolazione di bambini sani di età compresa tra 0 mesi e 18 anni (dati non pubblicati). I valori sono puramente indicativi.

Tabella 3 Valori di riferimento di ICTP serico per -i bambini

Gruppi di età		Limite inferiore (µg/l)	Media (µg/l)	Limite superiore (µg/l)
Ragazzi e ragazze	0–3 mesi	51	61	71
	3–6 mesi	23	32	40
	6–12 mesi	15	22	30
	1–2 anni	12	16	20
	2–9 anni	7	11	16
Ragazzi	9–13 anni	8	11	15
	13–16 anni	10	16	23
	16–18 anni	8	9	11
Ragazze	9–11 anni	9	12	15
	11–14 anni	10	13	16
	14–16 anni	6	10	14
	16–18 anni	4	5	7

12. PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

I risultati forniti di seguito sono stati ottenuti da Aidian e rappresentano i dati tipici.

Intervallo di misura

1.0–50 µg/l.

Limite di rivelazione

Più di 0.6 ug/l.

Limite di quantificazione

Approssimativamente 1.8 µg/l.

Linearità

5 concentrazioni elevate di campioni di siero sono state diluite serialmente con 5 concentrazioni basse di campioni di siero. Il recupero medio è stato del 102%.

Recupero

Quantità note di ICTP sono state aggiunte a 3 concentrazioni basse di campioni di siero di pazienti. La media è stata del 109 %.

Precisione

Le variazioni nella serie e tra le serie sono state determinate usando un pool di sieri contenente differenti concentrazioni di ICTP.

Tabella 4 Precisione nella serie e tra le serie

Precisione nella serie di 20 replicati			Precisione tra le serie di 10 determinazioni in duplicato		
Campione	Media (µg/l)	CV (%)	Campione	Media (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Sostanze interferenti

Concentrazioni di bilirubina < a 400 µmol/l non interferiscono. Concentrazioni seriche fino a 5 g/l di emoglobina non interferiscono. Trigliceridi < 5 g/l non interferiscono. Non usare campioni lipemici.

Specificità

Il determinante antigenico dell'anticorpo è tra due sequenze idrofobiche ricche di fenilalanina del legame di tre molecole di ICTP. Il legame bivalenti e peptici monometrici contenenti solo una sequenza ricca di fenilalanina dimostra una scarsa immunoreazione. L'Antisiero ICTP RIA non ha reazioni incrociate con gli antigeni utilizzati in altri test UniQ del collagene.

13. TRACCIABILITÀ

L'analita presente nel UniQ ICTP RIA è tracciabile rispetto ai calibratori di riferimento del produttore, preparati da ICTP altamente purificato con valore assegnato con l'analisi della composizione aminoacidica.

14. SMALTIMENTO

- Smaltire il prodotto in conformità alla regolamentazione nazionale e locale.
- Tutti i campioni dei pazienti, le cuvette e le provette per il campionamento usate devono essere maneggiati e smaltiti come materiali potenzialmente infetti.
- I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti in conformità alle leggi applicabili.
- Materiali dei componenti:
 - Carta: istruzioni per l'uso
 - Cartone: scatola del kit
 - Plastica: bottiglia del reagente di separazione, tappi dei flaconi
 - Gomma: Tappi
 - Vetro: fiale del tracciante, dell'antisiero, del calibratore e del controllo
 - Gommapiuma
- I reagenti forniti, se utilizzati conformemente alle norme della Buona Pratica di Laboratorio, nonché nel rispetto delle norme igieniche e delle istruzioni per l'uso, non dovrebbero presentare rischi per la salute.

UniQ® ICTP RIA

C-terminální telopeptid kolagenu typu I

Radioimunoanalytické stanovení, zkumavky s navázanou protilátkou

1. URČENÝ ÚČEL POUŽITÍ

UniQ ICTP RIA je kvantitativní radioimunoanalytický test určený pro stanovení koncentrací karboxyterminálního křížově provázaného telopeptidu kolagenu typu I v lidském séru. **Pro diagnostické použití *in vitro*.**

2. SOUHRN A VÝKLAD

Kolagen typu I je nejrozšířenějším typem kolagenu v těle a je jediným typem kolagenu, který se vyskytuje v mineralizované kosti, kde představuje více než 90 % organické kostní hmoty. Kolagen typu I se dále nachází v řídkých pojivových tkáních společně s dalšími typy kolagenů, jako je typ III, V a VI. V těchto tkáních je podíl kolagenu typu I nejvyšší.

Kolagen typu I se vyskytuje v podobě vláken, jejichž struktura vykazuje určité variace v závislosti na typu tkáně. V kosti jsou molekuly kolagenu I provázány prostřednictvím tří hydroxylysinových a lysinových zbytků nebo jejich derivátů, které vytvářejí fluorescentní cyklickou pyridinolinovou strukturu spojující tři různé polypeptidové řetězce kolagenu dohromady. V řídké pojivové tkáni, jako je kůže, není hlavní zralá provázaná struktura kolagenu I fluorescentní a obsahuje jako jeden z aminokyselinových zbytků histidin.

ICTP je karboxyterminální telopeptidový úsek kolagenu I provázaný prostřednictvím pyridinolinových vazebných spojek a uvolňovaný během degradace kolagenu typu I. Tento peptid se nachází v krvi ve formě, která je imunochemicky intaktní. Předpokládá se, že jeho vznik souvisí s resorpcí kostí a degradací řídké pojivové tkáně. Nedávno bylo zjištěno, že antigen ICTP je produkován činností matrixových proteináz, což jsou enzymy působící při degradaci tkání za různých patologických podmínek.

Zvýšené koncentrace ICTP v séru se vyskytují při stavech spojených se zvýšenou osteolýzou, tedy při stavech jako je mnohočetný myelom, osteolytická metastáza, revmatoidní artritida a znehybnění. Protože ICTP není produkován za fyziologických podmínek při degradaci kosti zprostředkované katepsinem K, jeho koncentrace je méně ovlivněna např. menopauzou.

3. PRINCIP TESTU

UniQ ICTP RIA test je založen na technice kompetitivní radioimunoanalýzy. Známé množství značeného ICTP a neznámé množství neznačeného antigenu soutěží o omezený počet afinitních vazebných míst protilátky. Po separaci volného antigenu je množství značeného ICTP ve zkumavce nepřímo úměrné množství ICTP ve vzorku. Koncentrace v neznámých vzorcích se odečtou z kalibrační křivky.

4. REAGENCIE

UniQ® ICTP RIA, kat. č. 68601

Název a původ složky	Použité symboly	Σ 100	Stabilita při 2...8°C	
			Neotevřené	Otevřené
Radioindikátor	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktivita < 200 kBq	Do data expirace vyznačeného na štítku	6 týdnů
Antisérum ORIG RAB	Ab	22 ml	Do data expirace vyznačeného na štítku	6 týdnů
Kalibrátor	CAL xx µg/l	7 x 0.75 ml	Do data expirace vyznačeného na štítku	6 týdnů
Kontrola ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Do data expirace vyznačeného na štítku	1 týden po rekonstituci
ICTP RIA separační reagencie	REAG SEPAR	60 ml	Do data expirace vyznačeného na štítku	6 týdnů
Návod k použití				

Reagencie obsahují azid sodný – přečtěte si část 5 "Upozornění a varování".

Příprava reagií

Kontroly jsou lyofilizované. Všechny ostatní reagencie jsou připravené k použití.

Lahvičky s kontrolou ještě před jejich otevřením vytemperujte na pokojovou teplotu (18..25°C). Kontroly rekonstituujte přidávkem 1,0 ml destilované nebo deionizované vody do každé lahvičky. Zavřete víčko a důkladně promíchejte jemným kroužením nebo převrácením, zamezte přitom tvorbě pěn. Před použitím nechte stát 30 minut.

Zhoršení stavu reagií

Změny fyzikálního stavu reagií nebo ve sklonu kalibrační křivky nebo hodnoty kontrolního séra mimo rozmezí přípustné výrobce mohou být indikátorem nestability reagií. Reagencie nepoužívejte, jestliže máte podezření na zhoršení stavu reagií.

5. UPOZORNĚNÍ A VAROVÁNÍ

Údaje o zdraví a bezpečnosti

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Nepipetujte ústy.
- Se všemi vzorky pacientů a kontrolami je nutné zacházet jako s potenciálně infekčním materiálem.
- Kontrolní materiál obsahuje složky lidského původu, které byly testovány a sledovány negativními na protilátky proti viru lidské imunodeficiency (HIV 1 a 2), viru hepatitidy C (HCV) a na povrchový antigen viru hepatitidy B (HBsAg).

Přesto s kontrolami zacházejte jako s materiálem potenciálně infekčním.

- Lyofilizované reagentie obsahují < 1 % azidu sodného (Aquatic Chronic 3). Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky (H412). Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami (EUH032). Zabraňte uvolnění do životního prostředí (P273). Odstraňte obsah podle národních a místních zákonů (P501). Reakcí azidů s kovovým potrubím mohou vznikat výbušné sloučeniny. Riziku nahromadění azidu v odpadním potrubí při likvidaci reagentií zabráníte tak, že odpad spláchnete velkým množstvím vody.
- Rekonstituované a tekuté reagentie obsahují < 0,1 % azidu sodného. Tato koncentrace není považována za škodlivou.
- Tato souprava obsahuje ¹²⁵I (poločas T_{1/2} 60 dnů) emitující 35,5 keV gama záření a 27–32 keV rentgenového záření. Radioaktivní materiál obsažený v této soupravě mohou přijímat, přechovávat a používat pouze lékaři, klinické laboratoře, výzkumné ústavy nebo nemocnice a mohou být používány pouze pro klinické testy nebo laboratorní testování in vitro, které nezahrnuje interní ani externí podávání materiálu nebo radiace z něj pramenící k ozařování lidí nebo zvířat. Veškeré radioaktivní materiály skladujte a manipulujte s nimi jen na místech k tomu určených. Prodej, skladování, používání nebo manipulace s radioaktivním materiálem podléhá zákonům v zemi uživatele.
- Zamezte styku s kůží a očima. Při styku s kůží místo okamžitě omyjte velkým množstvím vody a dekontaminujte dle příslušných nařízení pro likvidaci nehodou ukápnutých materiálů.
- Ukápnutý radioaktivní materiál je nutno okamžitě setřít detergentem a kontaminované čisticí materiály umístit do sběrné nádoby pro radioaktivní odpad nebo likvidovat podle doporučení Státního úřadu pro jadernou bezpečnost.
- Radioaktivní materiál, určený do odpadu, musí být likvidován v souladu s platnými právními předpisy v daném státě. Prostudujte si předpisy pro jadernou bezpečnost a nařízení příslušného úřadu pro manipulaci, uskladnění a likvidaci radioaktivních materiálů.

Analytická bezpečnostní opatření

- Nepoužívejte produkt po uplynutí doby expirace uvedené na vnějším obalu.
- Nepřekračujte dobu, po kterou je zaručena stabilita pro otevřené reagentie.
- Nemíchejte komponenty z různých sarží nebo různých testů.

6. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Před odběrem vzorku není nutná žádná speciální příprava pacienta.

Použijte sérum, asepticky odeberte venózní krev za dodržení běžných bezpečnostních opatření. Test neprovádějte se vzorky plazmy.

Nepoužívejte vzorky pacientů, které jsou vysoce lipemické, hemolyzované nebo mikrobiálně kontaminované.

Manipulace se vzorkem; skladování vzorku

Po odběru vzorku nechte krev sražit a separujte sérum centrifugací. Vzorky sér se mohou skladovat až 5 dnů při teplotě 2...8°C. Delší dobu skladujte při teplotě –20°C a méně. Je třeba se vyhnout opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorku. Vzorky s vysokou koncentrací ICTP lze ředit pomocí 0,9 % NaCl.

7. PRACOVNI POSTUP

Potřebný materiál, který není součástí soupravy

- Mikropipety pro přesné dávkování 100 µl, 200 µl, 500 µl a 1000 µl
- Testovací zkumavky (z polystyrenu)
- Buničitá vata
- Krycí folie parafilm
- Vibrační míchadlo
- Vodní lázeň s teplotou $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- Dekantovací stojánek
- Centrifuga s odstředivou silou nejméně 2000 g
- Gama-čítač
- Destilovaná voda

Přístroje

K měření lze použít jakýkoliv gama čítač schopný měření ¹²⁵I. Účinnost měření by měla být pravidelně kontrolována, stejně tak i proměřováno pozadí. Doporučuje se systematická kalibrace přístroje. Podrobnosti týkající se zapojení, použití, údržby a kalibrace najdete v návodu k obsluze dodávaném výrobcem přístroje.

Pracovní postup

1	Všechny reagenty a vzorky temperujte na laboratorní teplotu ($18...25^\circ\text{C}$) alespoň 30 minut před použitím.
2	Označte sadu zkumavek v duplikátech pro nespécifickou vazbu (NSB), kalibrátory, kontroly, vzorky sér pacientů a pro celkovou aktivitu.
3	Do odpovídajících zkumavek napipetujte po 100 µl kalibrátorů, kontrolních vzorků a vzorků sér pacientů. Do zkumavek pro stanovení nespécifické vazby (NSB) lze pipetovat sérum kteréhokoliv pacienta.
4	Do všech zkumavek přidejte 200 µl radioindikátoru (červený).
5	Do všech zkumavek, kromě NSB a celkové aktivity, napipetujte 200 µl roztoku protilátky (modrý). Do zkumavek určených pro stanovení NSB přidejte 200 µl destilované vody.
6	Obsah všech zkumavek důkladně promíchejte na vibračním míchadle, zkumavky překryjte fólií a inkubujte 2 hodiny při $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
7	Separční činidlo nejprve důkladně promíchejte šetrným převrácením lahvičky dnem vzhůru a přidejte po 500 µl do všech zkumavek kromě zkumavek s celkovou aktivitou.
8	Obsah zkumavek důkladně promíchejte na vibračním míchadle a inkubujte 30 minut při $18...25^\circ\text{C}$.
9	Zkumavky centrifugujte 30 minut při nejméně 2000 g při teplotě v rozmezí $4...20^\circ\text{C}$ (doporučovaná teplota je 4°C).
10	Obsah všech zkumavek, výjma zkumavek pro stanovení celkové radioaktivity, dekantujte. jemně klepněte zkumavkami do buničité vaty a ponechte několik vteřin odkapat, aby se odstranil i poslední zbytek kapaliny. Dejte pozor, aby nedošlo k dekantaci sraženiny. Zkumavky jednou otočené nazpět již znovu dnem vzhůru neotáčejte. Pokud ve zkumavkách zůstanou zbytky kapaliny, způsobí to rozptýl v hodnotách replikátů a chybné hodnoty.
11	Změřte radioaktivitu všech zkumavek pomocí gama-čítače po dobu alespoň 1 minuty nebo po akumulaci 10 000 impulsů/ zkumavku.
12	Vypočítejte výsledky podle postupu uvedeného v části "Interpretace výsledků testu".

Souhrn pracovního postupu

(všechny objemy jsou v µl)

	Celková aktivita	NSB	Kalibrátor	Kontrolní séra a séra pacientů
Napipetujte vzorek		100	100	100
Napipetujte radioindikátor (červený)	200	200	200	200
Napipetujte antisérum (modré)			200	200
Napipetujte destilovanou vodu		200		
Míchejte		x	x	x
Inkubujte 2 hodiny při 37°C		x	x	x
Napipetujte separační reagencii		500	500	500
Promíchejte		x	x	x
Inkubujte 30 min. při pokojové teplotě 18...25°C.		x	x	x
Centrifugujte 30 minut při 2000 g		x	x	x
Dekantujte		x	x	x
Měřte 1 min nebo 10 000 impulzů	x	x	x	x

8. KONTROLA KVALITY

Všem klinickým laboratorům je v rámci interního programu zajišťování jakosti doporučováno provádět kontrolu postupu stanovením koncentrací při horní i při dolní hranici kalibrační křivky. Souprava UniQ ICTP RIA obsahuje dva kontrolní materiály: ICTP RIA kontroly 1 a 2. Očekávané rozsahy kontrol jsou uvedeny na zvláštním letáku, dodávaném se soupravou. Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila vlastní přijatelný rozsah vnitřních kontrol používaných v dané laboratoři. Střední hodnota rozsahu kontrolních vzorků má spadat do stanoveného rozsahu uváděného výrobcem. Pro stanovení hodnot kontrolních vzorků se doporučuje použít soupravy nejméně dvou různých šarží. Poté, co se stanoví rozsah kontrol, musí se kontroly analyzovat v duplikátech při každém stanovení.

9. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

Při automatickém výpočtu výsledků doporučujeme použít spline funkci. Výsledky lze odečíst manuálně z kalibrační křivky vynesené v semilogaritmických souřadnicích.

- **Vypočtete** střední hodnotu četností pro všechny kalibrátory, vzorky a kontroly.
- **Vypočtete** % (B/B₀) podle vzorce:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{četnost kalibrátoru nebo vzorku} - \text{NSB}}{\text{četnost nulového kalibrátoru} - \text{NSB}} \times 100$$

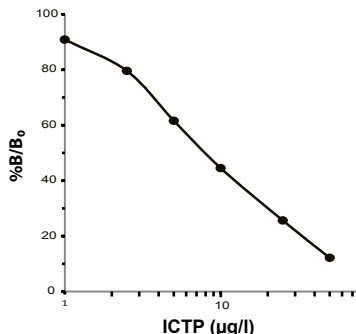
kde B je navázaná radioaktivita vzorku nebo kalibrátoru, B₀ je navázaná radioaktivita kalibrátoru 0 a NSB je radioaktivita nespecifické vazby.

- **Vyneste** kalibrační křivku na semilogaritmický papír z hodnot % (B/B₀) na ose y a odpovídajících koncentrací ICTP (µg/l) kalibrátorů na ose x.

- **Stanovte** koncentrace ICTP v neznámých vzorcích odečtením z kalibrační křivky.
- **Pokud** je u vzorku stanovena hodnota nižší než je hodnota nejnižšího kalibrátoru, měla by být nahlášena hodnota ve stanovené výši.
- **Každý vzorek se stanovenou hodnotou vyšší, než je hodnota nejvyššího kalibrátoru, musí být naředěn a znovu stanoven.** Po naředění musí být hodnoty opraveny použitím ředícího faktoru.

Obr. 1 Typická kalibrační křivka.

Tato kalibrační křivka je pouze orientační.



Tabulka 1 Výpočet výsledků při použití typických údajů.

Tato data jsou pouze orientační a nesmí být použita pro výpočet jakýchkoli výsledků vzorků.

Zkumavka	Průměr cpm	cpm-NSB	%B/B₀	ICTP (µg/l)
Celková aktivita	39445			
NSB	1397			
Kal. 0	17333	15936		
Kal. 1.0	15875	14478	90.9	
Kal. 2.5	14078	12681	79.6	
Kal. 5.0	11215	9818	61.6	
Kal. 10	8489	7092	44.5	
Kal. 25	5482	4085	25.6	
Kal. 50	3334	1937	12.2	
Neznámý vzorek	9494	8097	50.8	7.6
Neznámý vzorek	6046	4649	29.2	20.9

10. OMEZENÍ METODY

ICTP hodnoty podléhají diurnálnímu kolísání s vyššími hodnotami v noci. Při nedostatečnosti ledvin, je-li rychlost glomerulární filtrace 50 ml/min/1,73 m² a nižší, dochází ke zvýšení koncentrací ICTP v krvi. Zdá se, že játra se metabolismu sérového antigenu ICTP neúčastní.

ICTP by nemělo být jediným parametrem pro stanovení diagnózy a léčby, ale měl by být podpořen dalšími klinicky relevantními daty.

11. REFERENČNÍ INTERVALY

Z důvodů etnické, dietární a věkové variability nemusí tyto referenční hodnoty odpovídat celé populaci. Každá laboratoř by si proto měla vytvořit vlastní rozmezí referenčních hodnot.

Referenční hodnoty sérových hladin ICTP byly měřeny u zjevně zdravých dospělých osob ve věku 19–74 let soupravou ICTP RIA. Ke kalkulaci intervalů pro dolní a horní mez bylo použito neparametrické metody doporučené IFCC.

Tabulka 2 Referenční hodnoty koncentrací ICTP v séru

	Žena	Muž
Počet sledovaných osob	146	125
Průměr	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Referenční interval*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
0,90 intervaly spolehlivosti pro dolní referenční mez	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
pro horní referenční mez	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

*Referenční interval = 0,025 a 0,975 fraktilů.

Hodnoty ICTP pro děti byly určeny podle populace zdravých dětí ve věku 0 měsíců až 18 let (nepublikovaná data).
Hodnoty jsou pouze orientační.

Tabulka 3 Typické hodnoty koncentrací ICTP u dětí.

Věková skupina		Dolní mez (µg/l)	Střední hodnota (µg/l)	Horní mez (µg/l)
Chlapci a dívky	0–3 měsíců	51	61	71
	3–6 měsíců	23	32	40
	6–12 měsíců	15	22	30
	1–2 měsíce	12	16	20
	2–9 roky	7	11	16
Chlapci	9–13 let	8	11	15
	13–16 let	10	16	23
	16–18 let	8	9	11
Dívky	9–11 let	9	12	15
	11–14 let	10	13	16
	14–16 let	6	10	14
	16–18 let	4	5	7

12. ANALYTICKÉ PARAMETRY MĚŘENÍ

Níže uvedené výsledky byly získány v Aidian a představují typická analytická data.

Měřicí rozmezí

1,0–50 µg/l.

Detekční limit

Méně než 0.6 µg/l.

Kvantitativní limit

Přibližně 1.8 µg/l.

Linearita

Pět vzorků séra s vysokou koncentrací bylo postupně ředěno pěti vzorky séra s nízkou koncentrací. Průměrný výtěžek ze vzorků byl 102 %.

Metoda standardního přídatku

Znamé množství ICTP bylo přidáno ke třem patientským vzorkům séra s nízkou koncentrací. Průměrný výtěžek byl 109 %.

Preciznost

Pro stanovení variací v rámci testu (intra-assay) a mezi testy (inter-assay) byly testovány sérové vzorky o různých koncentracích ICTP.

Tabulka 4 Intra-assay / Inter-assay preciznost

Intra-assay preciznost 20 replikátů			Inter-assay preciznost 10 duplikátů		
Vzorek	Průměr (µg/l)	CV (%)	Vzorek	Průměr (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Interferující látky

Sérový bilirubin do koncentrace < 400 µmol/l a hemoglobin do koncentrace < 5 g/l neinterferují s měřením. Nedoporučujeme používat lipemická séra (triglyceridy do koncentrace < 5 g/l neinterferují).

Specifita

Antigenní determinanta protilátky leží uvnitř dvou hydrofóbních, na fenylalanin bohatých sekvencí trivalentně provázaného ICTP. Trivalentní provázání je nezbytné, protože bivalentně provázané nebo monovalentní peptidy, obsahující pouze jednu na fenylalanin bohatou sekvenci, vykazují nízkou imunoreakci. ICTP RIA antisérum křížově nereaguje s antigeny používanými v dalších testech pro kolageny UniQ.

13. NÁVAZNOST

Stanovovanou látku (analyt) v kalibrátorech UniQ ICTP RIA lze vysledovat až k pracovním kalibrátorům výrobce, které jsou připraveny z vysoce čištěného ICTP, jehož hodnota je určena za použití analýzy složení aminokyselin.

14. LIKVIDACE

- Odstraňte obsah podle národních a místních zákonů.
- Všechny vzorky pacientů a kontroly je nutné považovat za potenciálně infekční materiál a podle toho je nutné s nimi zacházet a likvidovat je.
- Radioaktivní materiál, určený do odpadu, musí být likvidován v souladu s platnými právními předpisy v daném státě.
- Materiály komponentů:
 - Papír: Návod k použití
 - Karton: Obal soupravy
 - Plast: Lahvička od separační reagentie, víčka lahviček
 - Pryž: Zátka
 - Sklo: Lahvičky od radioindikátoru, antiséra, kalibrátorů a kontrol
 - Pénová guma
- Jestliže jsou dodávány reagentie používány podle zásad správné laboratorní praxe, dobré pracovní hygieny a podle instrukcí v tomto návodu k použití, neměly by představovat zdravotní riziko.

UniQ® ICTP RIA

Zestaw radioimmunologiczny do oznaczania C-końcowego telopeptydu kolagenu typu I

1. PRZEZNACZENIE

Zestaw UniQ ICTP RIA jest przeznaczony do oznaczania całkowitego stężenia C-końcowego telopeptydu kolagenu typu I w ludzkiej surowicy krwi. **Do badań *in vitro*.**

2. PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIA

Kolagen typu I jest najczęściej spotykanym kolagenem w organizmie oraz jedynym kolagenem, jaki znaleźć można w warstwie mineralnej kości. Kolagen typu I stanowi 90 % masy organicznej kości. Ponadto, kolagen typu I występuje w tkance łącznej, wraz z innymi typami kolagenu, np. typ III, V i VI. Również i w tym przypadku stężenie kolagenu typu I jest największe. W tkankach, kolagen typu I występuje pod postacią włókien, różniących się budową w zależności od tkanki. W kościach, cząsteczki kolagenu typu I są łączą się przez reszty hydroksylizyny, lizyny oraz ich pochodnych. Tworzą one fluorescencyjną, cykliczną, strukturę pyrydinolinową oraz nieznaną strukturę niefluorescencyjną, które składają się z 3 różnych połączonych łańcuchów polipeptydowych kolagenu. W tkance łącznej, jak skóra, główną formą kolagenu typu I nie jest strukturą niefluorescencyjną i zawiera histydynę jako jedną z pozostałości aminokwasowych.

ICTP jest C-terminalnym telopeptydem w kolagenie typu I, łączącym się przez wiązanie trójwalencyjne i uwalnianym z degradacji dojrzałego kolagenu typu I. Peptyd ten znajduje się we krwi w postaci nienaruszonej. Prawdopodobnie dostaje się tam w wyniku resorpcji z kości i rozpadu tkanki łącznej. Jak niedawno udowodniono, antygen ICTP produkowany jest przy udziale tzw. metaloproteinaz cytoplazmatycznych, które są enzymami biorącymi udział w rozkładzie tkanek w różnych stanach chorobowych.

Dlatego też podwyższone stężenia ICTP obserwuje się w stanach związanych ze zwiększoną lizą kości, takich jak: myeloma, metastazy osteolityczne, artretyzm reumatyczny i tzw. unieruchomieniu.

3. ZASADY TESTU

Zestaw UNIQ ICTP RIA opiera się na technice kompetycyjnej, radioimmunologicznej. ICTP (nieznakowane) z próbki badanej oraz ICTP znakowane (¹²⁵I – ICTP) konkurują o ograniczoną ilość miejsc wiążących na przeciwciałach, znajdujących się w próbówce. Po wypłukaniu z próbówki z antygenem niezwiązanego ilość znakowanego antygeny (125I – ICTP) w próbówce testowej jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia antygeny (ICTP) w próbce badanej. Stężenie ICTP w próbkach badanych oblicza się z krzywej wzorcowej.

4. ODCZYNNIKI

UniQ® ICTP RIA, Nr kat 68601

Nazwa składnika i pochodzenie	Używane symbole	Σ 100	Stabilność w temp. 2...8°C	
			Zamknięte	Otwarte
Znacznik	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktywność < 200 kBq	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	6 tygodni
Przeciwciało ORIG RAB	Ab	22 ml	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	6 tygodni
Wzorce	CAL xxµg/l	7 x 0.75 ml	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	6 tygodni
Surowice kontrolne ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	do 1 tygodnia po rozpuszczeniu
Odczynnik separujący ICTP RIA	REAG SEPAR	60 ml	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	6 tygodni
Instrukcja użycia				

Odczynniki zawierają azcydek sodu, zob. część 5 "Ostrzeżenia i środki ostrożności".

Przygotowanie odczynnika

Kontrolne są poddane liofilizacji. Wszystkie pozostałe odczynniki są gotowe do użycia.

Doprowadzić fiołki do temperatury pokojowej (18...25°C), przed ich otwarciem. Rozpuścić surowice kontrolne dodając po 1 ml wody destylowanej lub dejonizowanej do kaźdej fiołki. Zakorkować i dokładnie wymieszać poprzez delikatne potrząsanie lub odwracanie fiołki. Unikać spienienia. Pozostawić na 30 minut przed użyciem.

Zła jakość odczynnika

Składniki zestawu, których wygląd budzi wątpliwości odbiorcy, różnice w nachyleniu krzywej wzorcowej lub też wartości surowic kontrolnych odbiegające od zakresu wyznaczonego przez producenta, mogą wskazywać na niestabilność odczynników. Nie należy korzystać z odczynników, jeśli podejrzewa się ich rozkład.

5. UWAGI I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Informacje dotyczące zdrowia i bezpieczeństwa

- Wyłączenie do użyciu w diagnostyce *in vitro*.
- Nie pipetować ustami.
- Wszystkie próbki pacjentów i kontrole należy traktować jak materiał potencjalnie zakaźny.
- Materiał kontrolny zawiera materiał pochodzenia ludzkiego, który został przetestowany z wynikiem negatywnym na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV 1 i 2, HCV oraz HbsAg. W ramach środków ostrożności z materiałem kontrolnym należy pracować jak z materiałem zdolnym do przenoszenia agensu infekcyjnego.

- Odczynniki liofilizowane zawierają < 1% azydru sodu (Aquatic Chronic 3). Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki (H412). W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy (EUH032). Unikać uwolnienia do środowiska (P273). Zawartość usuwać zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi (P501). Azydki mogą reagować z metalem w rurach kanalizacyjnych, tworząc wybuchowe związki. Tworzeniu azydru można przeciwdziałać, splukując wylwane odczynniki dużą ilością wody.
- Odczynniki rekonstruowane i płynne zawierają < 0,1% azydru. Takie stężenie nie jest uważane za szkodliwe.
- Zestaw zawiera ¹²⁵I (okres półtrwania $T_{1/2}$ równy 60 dni) emitujący promieniowanie gamma 35,5 keV oraz promieniowanie rentgenowskie 27–32 keV. Materiał radioaktywny zawarty w tym zestawie może być odbierany, uzyskiwany, posiadany i stosowany wyłącznie przez lekarzy, laboratoria kliniczne, instytucje badawcze i szpitale oraz stosowany wyłącznie do klinicznych badań lub testów laboratoryjnych *in vitro*, które nie obejmują wewnętrznego lub zewnętrznego podawania materiału lub napromieniania ludzi lub zwierząt. Wszystkie materiały radioaktywne powinny być przechowywane i przetwarzane wyłącznie w specjalnie wyznaczonych miejscach. Zakup, przechowywanie, stosowanie lub wymiana produktów radioaktywnych jest regulowane przepisami prawa obowiązującymi w kraju użytkownika.
- Unikać kontaktu ze skórą i oczami. W przypadku kontaktu ze skórą należy ją natychmiast przemyć dużą ilością wody oraz odczekać zgodnie z przepisami dotyczącymi usuwania przypadkowego rozlania płynu.
- Rozlany materiał radioaktywny musi być natychmiast usunięty za pomocą detergentu, a skażone materiały do czyszczenia umieszczone do pojemników przeznaczonych do odpadów radioaktywnych lub zlikwidowane zgodnie z zaleceniami Państwowego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Jądrowego.
- Materiały radioaktywne przeznaczone do wyrzucenia muszą być utylizowane zgodnie z obowiązującym prawem w danym kraju. Należy zapoznać się z przepisami dot. bezpieczeństwa jądrowego oraz rozporządzenia danego kraju o postępowaniu, składowaniu i utylizacji materiałów radioaktywnych.

Środki ostrożności dotyczące procedur analitycznych

- Nie używać produktu po upływie daty ważności podanej na opakowaniu zewnętrznym.
- Nie przekraczać okresu, w którym jest zapewniona stabilność otwartego odczynnika.
- Nie mieszać składników o różnych numerach serii lub z różnych testów.

6. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBK

Przed pobraniem próbek nie jest konieczne specjalne przygotowanie pacjenta.

W celu uzyskania próbki surowicy od pacjenta należy posłużyć się dostępną metodą medyczną. Pobrać krew żylną. Należy przy tym przestrzegać podstawowych zasad pobierania krwi żyłnej. Do badań nie używać próbek osocza.

Nie używać próbek pacjentów, które są wysoce lipemiczne, zhemolizowane lub mikrobiologicznie zanieczyszczone.

Przygotowanie i przechowywanie próbek

Próbkę krwi po pobraniu należy pozostawić do momentu wytracenia się skrzepu lub odwirować. Próbki mogą być przechowywane do 5 dni w temperaturze 2...8°C. Przy przechowywaniu przez dłuższy okres czasu próbki należy zamrozić w temperaturze przynajmniej –20°C. Należy unikać powtórnego zamrażania i rozmrażania próbek.

Próbki z podwyższonym stężeniem ICTP można rozcieńczać solą fizjologiczną (0.9% roztwór NaCl).

7. PROCEDURA ANALITYCZNA

Utylizacja: patrz rozdział 4 "Materiały", lista odczynników.

Potrzebne materiały nieuwzględnione w zestawie

- Pipety (100 µl, 200 µl, 500 µl i 1000 µl)
- Próbkówki (polistyren)
- Lignina lub bibuła
- Parafilm
- Wyrząsarka (Vortex)
- Łażnia wodna (temp. $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$)
- Statyw dekantacyjny
- Wirówka (osiągająca co najmniej 2000 g)
- Licznik gamma
- Woda destylowana

Aparatura

Pomiary można przeprowadzać dowolnym licznikiem promieniowania gamma, przeznaczonym do pomiarów izotopu jodu ^{125}I . Należy regularnie sprawdzać wydajność i granice błędu licznika, podobnie jak promieniowanie tła. Zaleca się systematyczną kalibrację urządzenia. Podczas instalacji, obsługi, naprawy oraz kalibracji licznika należy postępować zgodnie z instrukcją obsługi urządzenia.

Szczegółowa procedura

1	Doprowadzić wszystkie odczynniki i próbki do temperatury pokojowej na co najmniej 30 minut przed użyciem.
2	Oznakować próbkówki w dubletach dla NSB (próbna ślepa), wzorców, kontroli, próbek i pomiarów TOTAL.
3	Wpipetować 100 µl wzorców, kontroli lub próbek pacjentów do odpowiednich próbek. Dowolna próbka od pacjenta może zostać wpipetowana do próbek NSB.
4	Wpipetować 200 µl znacznika (kolor czerwony) do wszystkich próbek.
5	Wpipetować 200 µl przeciwciała (kolor niebieski) do wszystkich próbek poza NSB i TOTAL. Wpipetować 200 µl wody destylowanej do próbek NSB.
6	Wymieszać wszystkie próbkówki na vortexie, zakryć parafilmem i inkubować przez 2 godziny w temperaturze $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
7	Wymieszać dokładnie odczynnik separujący delikatnie odwracając fiolkę i dodać po 500 µl do wszystkich próbek, poza TOTAL.
8	Wymieszać wszystkie próbkówki na vortexie i inkubować przez 30 minut w temperaturze $18...25^{\circ}\text{C}$.
9	Odwirować wszystkie próbkówki (poza TOTAL) przy minimum 2000 g (przyśpieszenie), w temperaturze $4...20^{\circ}\text{C}$ (zaleca się 4°C), przez 30 minut.
10	Zekantować supernatant z próbek (poza TOTAL) i wytrząsnąć resztki płynu uderzając górą próbek o bibułę. Pozostawić próbkówki odwrócone na kilka sekund w celu lepszego usunięcia płynu. Należy uważać, aby nie zdekantować osadu. Nie odwracać ponownie próbek po ich odstawieniu. Nieudana dekantacja lub przesuszenie próbek może być przyczyną słabej powtarzalności lub nieprawidłowych wyników.
11	Zmierzyć wszystkie próbkówki przy pomocy licznika gamma przez co najmniej 1 minutę lub do osiągnięcia 10000 zliczeń w każdej z próbek.
12	Sposób obliczania wyników opisano w rozdziale "Obliczanie wyników".

Streszczenie procedury

(wszystkie objętości w µl)

	Total	NSB	Wzorzec	Kontrola i próbka badana
Wpipetować próbki		100	100	100
Wpipetować znacznik (czerwony)	200	200	200	200
Wpipetować przeciwciało (niebieski)			200	200
Wpipetować wodę destylowaną		200		
Wymieszać		x	x	x
Inkubować 2 godz/37°C		x	x	x
Wpipetować odczynnik separujący		500	500	500
Wymieszać		x	x	x
Inkubować 30 min/18...25°C		x	x	x
Wirować 30 min/2000 g		x	x	x
Zdekantować		x	x	x
Zliczać przez 1 minutę lub do 10000 zliczeń	x	x	x	x

8. KONTROLA JAKOŚCI

W związku z prowadzonym w laboratoriach klinicznych programem zapewnienia jakości należy stosować surowice kontrole w zakresie wartości niskich i wysokich w stosunku do zakresu referencyjnego. Ten sposób zapewnia monitorowanie wydajności procedury.

W zestawie UniQ ICTP RIA znajdują się dwie surowice kontrolne: ICTP PIA Controls 1 i 2. Wartości oczekiwane są podane na osobnej ulotce dołączonej do zestawu.

Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło we własnym zakresie, wartości graniczne dla stosowanych kontroli. Wartość średnia kontroli powinna mieścić się w przedziale tolerancji podawanym przez producenta. Wyznaczenie własnego zakresu dla surowic kontrolnych powinno zostać przeprowadzone w przynajmniej dwóch seriach. Po ustaleniu zakresów kontrolnych, należy przeprowadzić kontrole w duplikatach dla każdego badania.

9. INTERPRETACJA WYNIKU TESTU

Jeżeli stosuje się licznik automatyczny, zalecanym sposobem wyznaczania krzywej wzorcowej jest funkcja SPLINE. Jeżeli krzywą wzorcową rysuje się ręcznie to należy ją przedstawiać na papierze półlogarytmicznym.

- **Obliczyć** średnią ilość zliczeń dla wszystkich wzorców, próbek i kontroli.
- **Obliczyć** %B/B₀ ze wzoru:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{zliczenia dla wzorców lub próbek} - \text{NSB}}{\text{0-zliczenia dla wzorców} - \text{NSB}} \times 100$$

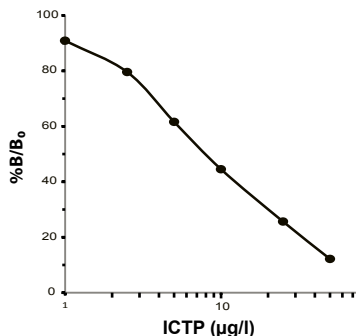
gdzie: B jest to radioaktywność próbki badanej lub wzorca, B₀ jest to radioaktywność wzorca 0, a NSB to radioaktywność próbki ślepej.

- **Naszkicować** krzywą wzorcową na papierze półlogarytmicznym z wartościami %B/B₀ na rzędnej (oś-Y) i wartościami stężenia ICTP (µg/l) wzorców na odciętej (oś-X).
- **Odczytać** wartości stężenia ICTP w próbkach badanych z krzywej wzorcowej.

- Każdy wynik odczytany poniżej najmniejszego wzorca powinien być podany jako wartość tego wzorca.
- Każda próbka, której wynik odczytano powyżej największego wzorca powinna zostać rozcieńczona. Następnie próbkę taką należy ponownie zmierzyć. Przy podawaniu wyniku takiej próbki należy uwzględnić krotność rozcieńczenia tzn. pomnożyć uzyskany wynik przez tę krotność.

Rys. 1 Typowa krzywa wzorcowa.

Ta krzywa wzorcowa jest tylko orientacyjna.



Tab. 1

Obliczenie wyników na podstawie przykładowych danych.

Danych tych nie należy używać do obliczania własnych wyników testu.

Próbówka	średnia cpm	cpm-NSB	%B/B ₀	ICTP (µg/l)
Total	39445			
NSB	1397			
Wz. 0	17333	15936		
Wz. 1.0	15875	14478	90.9	
Wz. 2.5	14078	12681	79.6	
Wz. 5.0	11215	9818	61.6	
Wz. 10	8489	7092	44.5	
Wz. 25	5482	4085	25.6	
Wz. 50	3334	1937	12.2	
Próbka bad.	9494	8097	50.8	7.6
Próbka bad.	6046	4649	29.2	20.9

10. OGRANICZENIA PROCEDURY

Wartości ICTP ulegają zmianom w zależności od pory dnia. Najwyższe obserwuje się w nocy. Niewydolność nerek, poziom filtracji kłębuszkowej o wartości 50 ml/min/1,73 m² lub mniej powodują podwyższenie stężenia ICTP we krwi. Wątroba to organ, którym prawdopodobnie odbywa się proces metabolizmu antygenu ICTP z krwi. Wyniki ICTP, które miałyby stanowić podstawę dla celów diagnostycznych i/lub terapeutycznych muszą być poparte innymi odpowiednimi danymi klinicznymi.

11. SPOŚÓB WYZNACZENIA LIMITÓW

Ze względu na różnice etniczne, żywieniowe i wiekowe, podane wyznaczenie limitów może nie dotyczyć wszystkich populacji. Dlatego też zaleca się wyznaczenie własnych zakresów referencyjnych w każdym laboratorium.

Za pomocą zestawu UniQ ICTP RIA oznaczono poziom ICTP u zdrowych osób dorosłych (19–74 lata). Następnie obliczono przedziały referencji dla górnych i dolnych granic za pomocą bezparametrowej metody zalecaniej przez IFCC.

Tabela 2 Przykładowe zakresy norm ICTP w surowicy

	Kobiety	Mężczyźni
Ilość badanych	146	125
Średnia	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Przedział referencyjny*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
Przedziały ufności 0,90 dla dolnej granicy referencyjnej	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
dla górnej granicy referencyjnej	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

*Przedział referencyjny = 0,025 i 0,975

Przedziały referencji (ICTP) dla dzieci pochodzą od zdrowej populacji dzieci w wieku od 0 miesięcy do 18 lat (dane niepublikowane). Podane wartości są jedynie wartościami sugerowanymi.

Tabela 3 Typowe wartości ICTP oznaczone w surowicy krwi u dzieci.

Grupa wiekowa		Dolna granica (µg/l)	Średnia (µg/l)	Górna granica (µg/l)
Chłopcy i dziewczęta	0–3 m-ce	51	61	71
	3–6 m-cy	23	32	40
	6–12 m-cy	15	22	30
	1–2 lata	12	16	20
	2–9 lat	7	11	16
Chłopcy	9–13 lat	8	11	15
	13–16 lat	10	16	23
	16–18 lat	8	9	11
Dziewczęta	9–11 lat	9	12	15
	11–14 lat	10	13	16
	14–16 lat	6	10	14
	16–18 lat	4	5	7

12. CHARAKTERYSTYKA ZESTAWU

Przedstawione poniżej wyniki uzyskane w firmie Aidan prezentują typowe dane wymagane dla zestawu.

Zakres pomiarowy

1,0–50 µg/l.

Granica wykrywalności

Mniej niż 0.6 µg/l.

Limit ilościowy

Przybliżone 1.8 µg/l.

Liniowość

Pięć próbek surowicy o wysokim stężeniu kolejno rozcieńczono pięcioma próbkami surowicy o niskim stężeniu. Średni odzysk 102 %.

Metoda standardowego odzysku

Znane ilości ICTP dodano do trzech próbek surowicy od pacjentów z niskim stężeniem. Średnia wydajność wyniosła 109%.

Zgodność

Wyznaczono zgodność wewnątrz- i między- seryjną, przy pomocy próbek surowicy, zawierających różne stężenia ICTP.

Tabela 4 Zgodność wewnątrz/między seryjną

Zgodność wewnątrzseryjna dla 20 powtórzeń			Zgodność międzyseryjna oceniana w 10 dubletach		
Próbka	Średnia (µg/l)	CV (%)	Próbka	Średnia (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Substancje interferujące

Bilirubina w surowicy o stężeniach < 400 µmol/l nie interferuje. Hemoglobina do stężenia 5 g/l nie interferuje. Trójglicerydy do stężenia 5 g/l nie interferują. Nie zaleca się używania próbek lipemicznych.

Specyficzność

ICTP z wiązaniem trójwalencyjnym, to antygen powodujący powstanie przeciwciała z determinantą antygenową położoną pomiędzy dwiema sekwencjami hydrofobowych, bogatymi w feniloalaninę. ICTP z układem trójwalencyjnym wykazuje największą immunoreaktywność z takim przeciwciałem. ICTP dwuwalencyjnie i monomeryczne tj. peptydy zawierające tylko jedną sekwencję bogatą w feniloalaninę wykazują mały stopień immunoreaktywności. Przeciwciała ICTP RIA nie reaguje krzyżowo z antygenami używanymi w pozostałych testach UniQ Collagen.

13. WŁAŚCIWOŚCI ZNACZNIKA

Wzorce do zestawu kalibrowano wobec roboczego macierzystego zestawu wzorców, które przygotowano z wysoko oczyszczonego ICTP. Wartość wzorców ustalono metodą analizy składu aminokwasów.

14. UTYLIZACJA

- Zawartość usuwać zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.
- Wszystkie próbki pacjenta, używane kuwety i próbówki do próbek należy traktować i usuwać w sposób odpowiedni dla materiału potencjalnie zakaźnego.
- Materiały radioaktywne przeznaczone do unieszkodliwienia muszą być utylizowane zgodnie z obowiązującym prawem w danym kraju.
- Materiały składników:
 - Papier: Instrukcje użycia
 - Karton: Opakowanie zestawu
 - Plastik: fiolka po odczynniku separującym, wieczka fiolek
 - Wyroby gumowe: korki
 - Szkło: fiolki po radioznacznikach, przeciwciałach, kalibratorze oraz kontroli
 - Guma piankowa
- Jeśli dostarczone odczynniki stosuje się zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną (GLP), właściwą higieną pracy oraz niniejszą instrukcją użycia, nie powinny one stanowić zagrożenia dla zdrowia.

UniQ® ICTP RIA

C-terminal telopeptide av typ I kollagen, Radioimmunassay kit

1. ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

UniQ ICTP RIA är en kvantitativ radioimmunoanalys avsedd för bestämning av karboxyterminal tvärbunden telopeptid av typ I kollagen i humant serum. **Enbart för *in vitro* diagnostik.**

2. SUMMERING OCH FÖRKLARING

Typ I kollagen är den mest rikligt förekommande kollagentypen i kroppen och den enda kollagentyp som förekommer i mineraliserat ben, där det utgör mer än 90 % av organisk vävnad. Dessutom förekommer typ I kollagen i mjuk bindväv tillsammans med andra kollagentyper som typ III, V och VI. Också i dessa vävnader är andelen av typ I kollagen störst.

Typ I kollagen förekommer i vävnader som fibrer, vars struktur varierar beroende på vävnadstyp. I ben är typ I kollagenmolekylen tvärbunden via tre rester av hydroxylisine, lysin eller deras derivat. Dessa bildar en fluorescerande, cyclisk pyridinolin-struktur och ej fluorescerande, okända, strukturer som binder samman tre olika kollagenpolypeptid-kedjor. I mjuk bindvävnad, som hud, är den huvudsakliga tvärbindingen av typ I kollagen inte fluorescerande och innehåller histidine som en av aminosyra resterna.

ICTP är den karboxyterminala telopeptidregionen av typ I kollagen, som är förenad via trevalenta tvärbindingar och som frigörs vid nedbrytning av typ I kollagen. Denna peptid kan i blod påvisas som en immunkemiskt intakt där den kan härledas från benresorption och nedbrytning av mjuk bindvävnad. Det har nyligen visats, att ICTP antigenet bildas genom inverkan av t.ex. vävnadsmetalloproteinaser, som är enzymer och medverkar i nedbrytning av vävnad vid olika sjukdomstillstånd.

Ökad serumkoncentration av ICTP förekommer därför vid tillstånd förenliga med ökad nedbrytning av benvävnad t.ex. vid multipelt myelom, osteolytiska metastaser, reumatoid artrit men också vid nersatt rörlighet. Eftersom ICTP inte bildas genom fysiologisk, kathepsin-K-förmedlad benresorption, är dess koncentration mindre påverkad av t.ex. menopaus.

3. ANALYSPRINCIP

UniQ ICTP RIA test är baserad på kompetitiv radioimmunanalysprincip. En känd mängd av märkt ICTP och en okänd mängd av omärkt ICTP i provet tävlar om ett begränsat antal specifika inbindningsplatser på en antikropp. Efter att ha tvättat bort det obundna antigenet, är mängden märkt ICTP i provröret omvänt proportionell mot mängden ICTP i provet. Koncentrationen i okända prover erhålles ur en kalibreringskurva.

4. REAGENS

UniQ® ICTP RIA, Cat. No. 68601

Namn och ursprung	Symbol	 100	Hållbarhet vid 2...8°C	
			Oöppnad	Öppnad
Tracer	Ag ¹²⁵ I	22 mL Radioaktivitet < 200 kBq	till utgångsdatum Se etikett	6 veckor
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	till utgångsdatum Se etikett	6 veckor
Kalibrator	CAL xx µg/l	7 x 0.75 ml	till utgångsdatum Se etikett	6 veckor
Kontroll ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	till utgångsdatum Se etikett	1 vecka efter uppspädning
ICTP RIA Separation Reagens	REAG SEPAR	60 mL	till utgångsdatum Se etikett	6 veckor
Bruksanvisning				

Reagenserna innehåller natriumazid som konserveringsämne. Se avsnitt 5 "Varningar och försiktighetsåtgärder".

Förberedelse av reagenser

Kontrollerna är lyofiliserade. Alla andra reagenser är bruksfärdiga.

Låt kontrollflaskorna anta rumstemperatur (18...25°C) innan de öppnas. Späd kontrollerna genom att tillsätta 1,0 ml destillerat eller dejoniserat vatten till varje flaska. Förslut och blanda ordentligt genom att försiktigt vaggas eller vända flaskan, undvik skumbildning. Låt stå 30 min före användning.

Instabilt reagens

Förändringar av reagensets fysiska utseende eller kalibreringskurvas lutning, eller att kontrollerna inte ligger inom utsatt område kan vara en indikation på att reagenset är instabilt. Använd inte reagenset om du misstänker något av det ovan nämnda.

5. VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Hälsö- och säkerhetsinformation

- Endast för *in vitro*-användning.
- Pipettera inte med munnen.
- Alla patientprover och kontroller ska hanteras som potentiellt infektiöst material.
- Kontrollerna innehåller material av humant ursprung, som har testats och funnits vara negativt för antikroppar mot humant immunbristvirus (HIV 1 och 2), antikroppar mot hepatit C-virus (HCV) och hepatit B-ytantigen (HBsAg). Som en försiktighetsåtgärd ska produkten hanteras som om den vore ett smittförande material.

- Lyofiliserade reagenser innehåller < 1 % natriumazid (Aquatic Chronic 3). Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer (H412). Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra (EUH032). Undvik utsläpp till miljön (P273). Innehållet lämnas till kassering enligt nationell och lokal lagstiftning (P501). Azider kan reagera med metaller i avloppsrör och bilda explosiva ämnen. Var därför alltid noggrann med att spola rikligt med vatten efter det att reagens har hållits ut i avloppet.
- Rekonstituerade reagenser och vätskereagenser innehåller < 0,1 % natriumazid, vilket inte anses vara skadlig koncentration.
- Kitet innehåller ¹²⁵I (halveringstid $T_{1/2}$ på 60 dagar) som emitterar 35,5 keV gammastrålning och 27–32 keV röntgenstrålning. Radioaktivt material som ingår i detta kit får bara tas emot, införskaffas, innehas och användas av läkare, kliniska laboratorier, forskningsinstitut och sjukhus. Materialet får bara användas för kliniska tester och laboratorietester in vitro utan intern eller extern administration av materialet eller strålning från det till människor eller djur. Allt radioaktivt material ska förvaras och hanteras enbart inom specifika därför avsedda områden. Inköp, förvaring, användning eller utbyte av radioaktiva produkter lyder under de lagar som gäller i användarens land.
- Undvik kontakt med hud och ögon. Tvätta omedelbart med rikligt med vatten om kontakt med hud uppstår och dekontaminera enligt lokala föreskrifter för spill.
- Spill från radioaktiva material ska omedelbart torkas upp med ett rengöringsmedel och det kontaminerade rengöringsmaterialet ska överföras till en behållare för radioaktivt avfall eller hanteras enligt strålsäkerhetsmyndighetens rekommendationer.
- Radioaktivt avfall måste bortskaffas enligt tillämpliga lagar. Följ de regler och procedurer som gäller på din institution avseende hantering, förvaring och bortskaffande av radioaktiva material.

Analytiska försiktighetsåtgärder

- Använd inte produkten efter det utgångsdatum som anges på den yttre förpackningen.
- Överskrid inte hållbarhetstiden för öppnat reagens.
- Blanda inte komponenter från olika lotnummer och olika tester.

6. PROVTAGNING OCH FÖRBEREDELSE

Inga särskilda patientförberedelser är nödvändiga före provtagning.

Serum tas som ett vanligt venprov, följer de normala rutinerna för venprovtagning. Testen kan inte utföras på plasma-prover. Starkt lipemiska, hemolytiska eller mikrobiellt kontaminerade patientprover ska undvikas.

Förvaring och hantering av prover

Efter provtagning låt blodet koagulera och separera serum genom centrifugering. Proverna är hållbara 5 dagar vid 2...8°C, och under längre perioder vid –20°C. Upprepad frysning och tining av proverna bör undvikas.

Prover med hög ICTP-halt kan spädas med 0.9 % saltlösning.

7. PROCEDUR

Se avsnitt 4 "Reagens" för en lista över reagens.

Material som behövs men inte finns i kittet

- Pipetter (100 µl, 200 µl, 500 µl och 1000 µl)
- Tesrör (polystyren)
- Absorberande papper
- Paraffinfilm
- Vortexmixer
- Vattenbad (för att hålla temperatur 37 ±1°C)
- Decanteringsrack
- Centrifug (kapacitet minst 2000 g)
- Gamma counter
- Destillerat vatten

Instrument

Använd en gammarräknare avsedd för mätning av ¹²⁵I. Utför effektivitetsmätningar regelbundet liksom bakgrundsmätningar. Regelbunden kalibrering av instrumentet rekommenderas. Se instrumenttillverkarens manual för detaljer rörande installation, användning, underhåll och kalibrering.

Bruksanvisning

1	Låt alla reagens, kontroller och prover anta rumstemperatur (18...25°C) minst 30 minuter före användning.
2	Märk test rör som dubbelprov för NSB (non-specific binding), kalibratorer, kontroller, patientprover och total.
3	Pipettera 100 µl av kalibratorer, kontroller och patientprover i de uppmärkta rören. Ett av patientproven används för NSB rören.
4	Pipettera 200 µl av tracer (röd) till alla rör.
5	Pipettera 200 µl av antiserum (blå) till alla rör utom NSB och total. Pipettera 200 µl av destillerat vatten till NSB rören.
6	Blanda alla rör på en vortexmixer, täck med paraffinfilm och inkubera 2 timmar i 37 ±1°C.
7	Blanda separationslösningen (PEG) ordentligt genom varsam skakning och tillsätt 500 µl till alla rören utom totalrören.
8	Blanda rören på en vortexmixer och inkubera 30 minuter i 18...25°C.
9	Centrifugera alla rören utom totalrören 30 minuter vid 2000 x g (minimum) i 4...20°C (4 °C rekommenderas).
10	Håll av supernatanten från alla rör utom Total Counts och låt stå upp och ner och rinna av i några sekunder mot absorberande papper. Kontrollera att inte precipitatet dekanteras. Vänd inte rören ännu en gång efter det att de vänts upp. Felaktigheter i dekanteringen kan leda till dåliga dubbelvärden och felaktiga resultat.
11	Mät varje rör i en gammarräknare minst 1 minut eller tills 10 000 counts/rör har uppmätts.
12	Beräkna resultatet beskrivet i avsnittet "Beräkning av resultat".

Analysprocedur – Kortfattad

(alla volymer anges i µl)

	Total	NSB	Kalibrаторer	Kontroll & okänd
Pipettera prov		100	100	100
Pipettera tracer (röd)	200	200	200	200
Pipettera antiserum (blå)			200	200
Pipettera destillerat vatten		200		
Blanda		x	x	x
Inkubera 2 tim i 37°C		x	x	x
Pipettera separationsreagens		500	500	500
Blanda		x	x	x
Inkubera 30 min vid 18...25°C		x	x	x
Centrifugera 30 min/2000 g		x	x	x
Dekantera		x	x	x
Mät 1 min eller 10 000 counts	x	x	x	x

8. KVALITETSKONTROLL

Ett internt kvalitetssäkringsprogram rekommenderas för alla kliniska laboratorier liksom analys av kontroll i både höga och låga kalibreringsområdet för att kontrollera metodens kvalitet. Med UniQ ICTP RIA följer två kontroller: ICTP RIA Control 1 & 2. Förväntade värden ses på de separata blad som medföljer testen. Varje laboratorium bör ha egna godkända gränsområden för de kontroller som används. Medelvärdet på kontrollerna bör ligga inom det område som Aidian angivit. Det rekommenderas att använda minst två kit med olika tillverkningsnummer (batchnummer) för att bestämma kontrollernas gränsområden. När kontrollområdet bestämts ska kontroller analyseras som dubbelprov vid varje körning.

9. BERÄKNING AV RESULTAT

Vid automatisk resultatberäkning rekommenderas spline-funktions kurvanpassning. Resultat kan också tas fram manuellt på semi-log grafpapper.

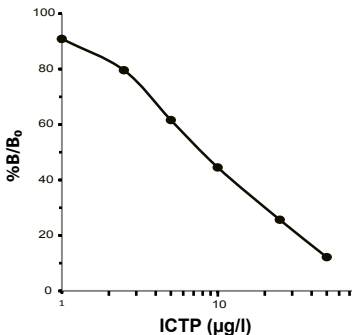
- **Beräkna** medelvärdet av counts för alla rör (kalibrаторer, prov, kontroller).
- **Beräkna** %B/B₀ från:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{kalibrатор eller prov counts} - \text{NSB}}{0\text{-kalibrатор counts} - \text{NSB}} \times 100$$

där B är den bundna radioaktiviteten för ett prov eller kalibrатор, B₀ är den bundna aktiviteten för kalibrатор 0 och NSB för radioaktiviteten för icke-spezifisk bindning.

- **Rita** en kalibreringskurva på semi-log grafpappret med %B/B₀ värdena på Y-axeln och kalibrаторernas ICTP koncentration (µg/L) för kalibrаторerna på X-axeln.
- **Bestäm** ICTP-koncentrationerna på de okända proverna utifrån kalibreringskurva.
- **Prov** som ger resultat under lägsta kalibrаторn ska så rapporteras
- **Prov som ger resultat över den högsta kalibrаторn ska spädes och oanalyseras.** Efter spädning måste värdet korrigeras med spädningsfaktorn.

Fig. 1 Typisk kalibreringskurva.
Denna kalibreringskurva är endast för illustration.



Tabell 1 Beräkning av typiska resultat.
Detta är endast för illustration och får inte användas som kalkylering av några analysresultat.

Rör	MV cpm	cpm- NSB	%B/B ₀	ICTP (µg/l)
Total	39445			
NSB	1397			
Kal 0	17333	15936		
Kal 1.0	15875	14478	90.9	
Kal 2.5	14078	12681	79.6	
Kal 5.0	11215	9818	61.6	
Kal 10	8489	7092	44.5	
Kal 25	5482	4085	25.6	
Kal 50	3334	1937	12.2	
Okänd	9494	8097	50.8	7.6
Okänd	6046	4649	29.2	20.9

10. BEGRÄNSNINGAR I PROCEDUREN

ICTP värdet varierar över dygnet med högre värden på natten. Njurinsufficiens, glomerulärfiltrationshastighet på 50 ml/min/1,73 m² eller mindre, leder till förhöjd ICTP koncentration i blodet. Levern tycks inte medverka i metaboliseringen av serum ICTP-antigen. Som en grund för diagnostisk och terapeutisk bedömning måste ICTP värdet kompletteras med andra kliniska bedömningar.

11. REFERENSOMRÅDEN

Etniska skillnader, kost- och åldersvariationer kan medföra att angivna referensområden inte kan tillämpas på alla populationer. Varje laboratorium bör därför ta fram sina egna representativa referensområden.

ICTP värdet för till synes friska vuxna (19–74 år) har analyserats med ICTP RIA kit. Den non-parametriska metoden som rekommenderas av IFCC användes för att beräkna referensintervall och konfidensintervall för höga och låga värden.

Tabell 2 Serum ICTP referensområde

	Kvinnor	Män
Antal patientprover	146	125
Medelvärde	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Referens område*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
0,90-konfidensintervall för lågt referensområde	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
för högt referensområde	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

* Referens intervall = 0,025 & 0,975 fraktiler

ICTP värden för barn har härletts ur en grupp friska barn i åldern 0 månader till 18 år (opublicerad data). Värdena bör endast användas som referens.

Tabell 3 Typiska serum ICTP värden för barn

Ålder		Låga värden (µg/l)	MV (µg/l)	Höga värden (µg/l)
Pojkar och flickor	0–3 månader	51	61	71
	3–6 månader	23	32	40
	6–12 månader	15	22	30
	1–2 år	12	16	20
	2–9 år	7	11	16
Pojkar	9–13 år	8	11	15
	13–16 år	10	16	23
	16–18 år	8	9	11
Flickor	9–11 år	9	12	15
	11–14 år	10	13	16
	14–16 år	6	10	14
	16–18 år	4	5	7

12. SPECIFIKA DATA FÖR ANALYSEN

Resultaten som presenteras nedan härstammar från test utförda hos Aidian och de representerar typiska data.

Mätområde

1,0–50 µg/l.

Detektionsgräns

Bättre än 0.6 µg/l.

Kvantifieringsgräns

Ungefär 1.8 µg/l.

Linjaritet

Fem serumprov med hög koncentration späddes seriellt med fem serumprov av låg koncentration. Det genomsnittliga utbytet var 102 %.

Utbyte

Kända mängder av ICTP tillsattes till tre patientprover med låg koncentration i serum. Utbytet var med ett medelvärde på 109 %.

Precision

Inom- och mellanvariation bestämdes på serumprover med olika koncentrationer av ICTP.

Tabell 4 Inom- / mellanserieprecision

Inomserieprecision från 20 replikatanalysen			Mellanserieprecision från 10 dubbelprover		
Prov	MV (µg/l)	CV (%)	Prov	MV (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Interferenser

Serumbilirubin i koncentration < 400 µmol/l påverkar inte analysen. Serumhemoglobin i koncentration upp till 5 g/L påverkar inte analysen. Triglycerider < 5 g/l interfererar inte. Analys av kraftigt lipemiska prover rekommenderas inte.

Specificitet

Antigena determinanten i antikroppen ligger inom de två hydrofoba fenylalaninrika sekvenserna i den trivalent tvärbundna ICTPen. En trivalent tvärbinding är nödvändig, eftersom den divalent tvärbundna och monomera peptider innehållande endast en fenylalaninrik sekvens visar dålig immunreaktion. ICTP RIA antiserumet reagerar inte med de antigenerna som används i de andra UniQ kollagen kittena.

13. SPÅRBARHET

Analyten i UniQ ICTP RIA kalibratorerna är spårbar till tillverkarens "master standard" vars värde bestäms med hjälp av analys av aminosyrornas sammansättning.

14. AVFALLSHANTERING

- Innehållet lämnas till kassering enligt nationell och lokal lagstiftning.
- Alla patientprover, använda kyvetter och provtagningsrör ska hanteras och kasseras som biologiskt och potentiellt infektiöst material.
- Radioaktivt avfall måste bortskaffas enligt tillämpade lagar.
- Material i komponenterna:
 - Papper: Bruksanvisning
 - Kartong: Kitets förpackning
 - Plast: Flaskor för serarationsreagenset, flaskklock
 - Gummi: Proppar
 - Glas: Tracer, antiserum, kalibrator och kontrollflaska
 - Skumgummi
- Vid användning enligt god laboratoriepraxis, god arbetshygien samt instruktionerna i denna bruksanvisning bör reagensen inte utgöra någon hälsofara.

UniQ® ICTP RIA

C-terminal telopeptide of type I collagen, radioimmunoassay

1. ANVENDELSE

UniQ ICTP RIA er en kvantitativ radioimmunoassay for bestemmelse av carboxyterminal tverrbundet telopeptid av type I collagen konsentrasjonen i humant serum. **Kun for *in vitro* diagnostikk.**

2. OPPSUMMERING OG FORKLARING

Type I collagen er den collagen type, som det forekommer mest av i kroppen og den eneste collagen type som forekommer i minerealiserte knokler, hvor den utgjør mer enn 90 % av den organiske matrix. Dessuten forekommer type I collagen i løst bindevev sammen med andre collagen typer så som type III, V og VI. Også i disse vev er andelen av type I collagen størst.

Type I collagen forekommer i fiber hvor strukturen varierer beroende på vevstypen. I knokler er type I collagen molekylene tverrbundet via tre rester av hydroxylysin, lysin eller deres derivater. Disse danner en fluorescerende sykklisk pyridinolin-struktur, og ikke-fluorescerende ukjente strukturer, som binder tre forskjellige collagen polypeptidkjeder sammen. I løst bindevev, som hud, er den viktigste tverrbinding av type I collagen ikke-fluorescerende og inneholder histidin som en av aminosyrerestene.

ICTP er det carboxyterminale telopeptidregion av type I collagen som er bundet via trivalente tverrbindinger og frigjøres ved nedbrydning av utviklet (mature) type I collagen. Dette peptid er påvist i en immunkjemisk intakt form i blod, hvor det trolig er avledet fra knokkellresorpsjon og nedbrydning av løst bindevev. Det er nylig blitt vist at ICTP antigenet er dannet gjennom påvirkning av f.eks. matrix metalloproteinaser, som er enzymer som medvirker i nedbrydningen av vev ved varierende patologiske forhold.

Økede ICTP serumkonsentrasjoner forekommer ved tilstander som er forenelig med øket nedbrydning av knokklev, så som ved multiple myeloma, osteolytiske metastaser, reumatoid artritt og f.eks. ved passivitet. Ettersom ICTP ikke dannes gjennom fysiologisk katepsin-K medierte knokkelresorpsjon, er konsentrasjonen mindre påvirket av f.eks. menopause.

3. TESTPRINSIPP

UniQ ICTP RIA kit er basert på kompetitativ radioimmunoassay teknikk. En kjent mengde merket ICTP og en ukjent mengde av umerket ICTP i prøven konkurrerer om et begrenset antall spesifikke bindingsplasser på antistoffet. Etter separering av fritt antigen, er mengden av merket ICTP i prøverørene omvendt proporsjonalt med mengden av ICTP i prøven. Konsentrasjonene i de ukjente prøvene fås fra en standardkurve.

4. REAGENSER

UniQ® ICTP RIA, Cat. No. 68601

Komponent navn og opprinnelse	Symbol	 100	Stabilitet ved 2...8°C	
			Uåpnet	Opnet
Tracer	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktivt < 200 kBq	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	6 uker
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	6 uker
Kalibrator	CAL xx µg/l	7 x 0.75 ml	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	6 uker
Kontroll ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	1 uke etter rekonstituering
ICTP RIA Separasjonsreagens	REAG SEPAR	60 ml	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	6 uker
Bruksanvisning				

Reagenser inneholder natriumazid som konserveringsmiddel, se kapittel 5 "Advarsler og forholdsregler".

Klargjøring av reagenser

Kontrollene er frysetørket. Alle andre reagenser er klar-til-bruk.

La kontrollflaskene få romtemperatur (18...25°C) før de åpnes. Rekonstituer kontrollene ved å tilsette 1,0 ml destillert eller deionisert vann til hver flaske. Kork flaskene og vend forsiktig for å unngå skumdannelse. La stå i 30 minutter før bruk.

Forringelse av reagenser

Endringer i utseendet av reagensenes, kalibreringskurvens stigning eller kontrollverdier utenfor produsentens godkjente range kan være en indikasjon på ustabile reagenser. Reagenser som mistenkes å være ødelagte skal ikke brukes.

5. ADVARSLER OG FORSIKTIGHETSREGLER

Helse- og sikkerhetsinformasjon

- Bare for *in vitro*-diagnose.
- Ikke bruk munnen ved bruk av pipetten.
- All pasientprøver og kontroller skal behandles som potensielt smittefarlig materiale.
- Kontrollene inneholder humant materiale som er testet og påvist fritt for antistoffer mot humant immunsviktvirus (HIV 1 og 2), hepatitt C-virus (HCV) og hepatitt B-overflateantigen (HBsAg). For sikkerhets skyld skal kontrollene håndteres som om det inneholder smittestoffer.

- Lyofiliserede reagenser inneholder < 1 % natriumazid (Aquatic Chronic 3). Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann (H412). Ved kontakt med syrer utvikles meget giftig gass (EUH032). Unngå utslipp til miljøet (P273). Indhold leveres til avhending i samsvar med nasjonal og lokal lovgivning (P501). Azider kan reagere med metall i avløpsrør og danne eksplosive forbindelser. Opphopning av azider kan unngås ved å bruke rikelig med vann når reagensene tømmes ut.
- Rehydrerte reagenser og reagenser i væskeform inneholder natriumazid < 0,1 %, en konsentrasjon som betraktes som ufarlig.
- Settet inneholder ¹²⁵I (halveringstid $T_{1/2}$ på 60 dager), som avgir gammastråler på 35,5 keV og røntgenstråler på 27 til 32 keV. Det radioaktive materialet i dette settet kan bare tas imot, anskaffes, oppbevares og brukes av leger, kliniske laboratorier, forskningsinstitusjoner og sykehus og kan bare brukes in vitro i kliniske tester og laboratorietester som ikke omfatter intern eller ekstern administrasjon av materialet eller resulterende stråleeksponering for mennesker eller dyr. Alt radioaktivt materiale skal lagres og håndteres på steder som spesifikt er satt av til dette formålet. Kjøp, lagring, bruk og utveksling av radioaktive produkter er underlagt lovgivningen i landet der produktet brukes.
- Unngå kontakt med huden og øynene. Vask øyeblikkelig med mye vann ved hudkontakt og dekontaminer i henhold til lokale regler for utilsiktet søl.
- Søl som inneholder radioaktivt materiale, skal fjernes umiddelbart med rengjøringsmiddel, og det forurensede rengjøringsmaterialet skal legges i beholderen for radioaktivt avfall eller håndteres i samsvar med anbefalingene fra myndighetene for stålevern.
- Radioaktivt avfall må avhendes i samsvar med gjeldende lovgivning. Konsulter reglene og prosedyrene som gjelder for institusjonen, for håndtering, lagring og avhending av radioaktivt materiale.

Analytiske forholdsregler

- Produktet skal ikke brukes etter utløpsdatoen som er oppført på emballasjen.
- Ikke overskrid stabilitetstiden for åpne reagenser.
- Ikke bland komponenter med forskjellig produktjonsnummer eller fra forskjellige tester.

6. PRØVETAKING OR FORBEREDELSE

Det kreves ingen spesiell forberedelse av pasienten før prøvetaking.

En skal bruke serum og en normal veneprobe skal samles med vanlig brukt medisinsk etter normale forhåndsregler for venepunksjon. Testen skal ikke benyttes med plasmaprøver.

Stærkt lipæmiske, hæmolytiske eller mikrobielt kontaminede patientprøver skal undgås.

Prøvehåndtering og lagring

Etter prøvetaking, la prøven koagulere og separer serum ved sentrifugering. Serumprøver kan lagres i inntil 5 dager ved 2...8°C og for lengre perioder ved -20°C eller lavere. Unngå repetert frysing og tining.

Prøver med høye ICTP-konsentrasjoner kan fortynnes med 0,9 % saltløsning.

7. PROSEDYRE

Se kapittel 4, "Reagens", for liste av reagenser.

Materialer som behøves, men som ikke finnes i kitet

- Pipetter (100 µl, 200 µl, 500 µl og 1000 µl)
- Testrør (polystyren)
- Absorberende papir
- Parafilm
- Vortex Mikser
- Vannbad (ved 37 ±1°C)
- Dekanteringsstativ
- Sentrifuge (minst 2000 g)
- Gammateller
- Destillert vann

Instrumenter

Enhver gammateller som er i stand til å måle ¹²⁵I kan brukes. Instrumentets telleeffektivitet og bakgrunnstall skal regelmessig kontrolleres. Det anbefales å kalibrere instrumentet systematisk. Se i produsentens brukermanual for instrumentet vedrørende detaljer ved installering, bruk, vedlikehold og kalibrering.

Prosedyredetaljer

1	Sørg for at alle reagenser, kontroller og prøvemateriale får romtemperatur (18...25°C) før bruk (minst 30 min. i romtemperatur).
2	Merk testrørene i duplikat for NSB (ikke-spesifik binding), kalibratorer, kontroller, pasientprøver og totaler.
3	Pipetter 100 µl av kalibratorer, kontroller eller pasientprøver i egnede rør. Det er likegyldig hvilken av pasientprøvene som pipetteres i NSB rørene.
4	Pipetter 200 µl tracer (rød) i alle rørene.
5	Pipetter 200 µl antiserum (blå) i alle rørene unntatt i NSB og total. Pipetter 200 µl destillert vann i NSB rørene.
6	Bland alle rør på en vortex mikser, dekk med parafilm og innkuber i 2 timer ved 37 ±1°C.
7	Bland separasjonsreagenset godt ved å vende flasken opp ned og tilsett 500 µl til alle rørene unntatt totalen.
8	Bland rørene på en vortex mikser og innkuber i 30 minutter ved 18...25°C.
9	Sentrifuger alle rør unntatt totalen i 30 minutter ved 2000 ggr. (minimum) ved 4...20°C (4°C anbefales).
10	Dekanter supernatanten, vend rørene opp ned og bank munningen av hvert rør (unntatt totalen) forsiktig mot et absorberende papir. Pass på så ikke presipitatet dekanteres. Vend ikke rørene opp ned igjen etter at de har vært vendt en gang. Feil i dekantering og blotting av rør kan resultere i dårlig e replika og fell verdier.
11	Mål hvert rør med en gammateller i minst 1 minutt eller inntil 10.000 counts pr. rør har blitt akkumulert.
12	Beregn resultatene som beskrevet i avsnittet "Beregning av resultater".

Testprosedyre – kortfattet

(alle volumer i µl)

	Total	NSB	Kalibrator	Kontroll & ukjent
Pipetter prøve		100	100	100
Pipetter tracer (rød)	200	200	200	200
Pipetter antiserum (blå)			200	200
Pipetter destillert vand		200		
Bland		x	x	x
Inkuber 2 timer / 37°C		x	x	x
Pipette separation reagent		500	500	500
Bland		x	x	x
Inkuber 30 min. / 18...25°C		x	x	x
Sentrifuger 30 min. / 2000 g		x	x	x
Dekanter		x	x	x
Mål 1 min. eller 10.000 counts	x	x	x	x

8. KVALITETSSIKRING

Et internt kvalitetssikringsprogram anbefales for alle kliniske laboratorier, selv om analyse av kontrollsera både i det høye og det lave referanseområdet utføres for å kontrollere prosedyrens ytelse. UniQ ICTP RIA assay har to kontrollmaterialer: ICTP RIA Control 1 & 2. Forventede områdene til kontrollene er oppgitt på et separat ark som følger med kitet. Det anbefales at hvert laboratorium etablerer godkjente grenseområder for kontrollene som benyttes i laboratoriet. Middelverdien av kontrollene bør ligge innenfor det aksepterte området oppgitt av Aidian. Det anbefales å bruke minst to kit med ulike lotnummer for å bestemme kontrollenes grenseområde. Etter at kontrollenes grenseområde er bestemt skal kontroller kjøres i duplikat med hvert oppsett.

9. BEREGNING AV RESULTATER

Til automatisk beregning av resultater anbefales en spline-funksjonskurve. Resultatene kan også beregnes manuelt på semi-logaritmisk papir.

- **Beregn** middelverdien for alle kalibratorer, prøver og kontroller.
- **Calculate** the %B/B₀ from:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{kalibrator eller prøve counts} - \text{NSB}}{\text{0-kalibrator counts} - \text{NSB}} \times 100$$

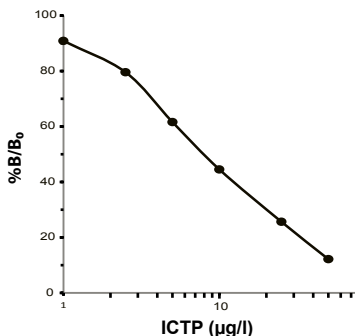
Der B er bundet radioaktivitet til en prøve eller kalibrator, B₀ er bundet radioaktivitet til kalibrator 0 og NSB er radioaktivitet til non-spesifikk binding.

- **Tegn** en kalibreringskurve på semi-logaritmisk papir med verdiene av %B/B₀ på y-aksen og ICTP konsentrasjonen (µg/l) av kalibratorene på x-aksen.
- **Bestem** ICTP-konsentrasjonene på de ukjente prøvene ved hjelp av kalibreringskurven.
- **Enhver prøve som leses lavere enn den laveste kalibratoren skal rapporteres som dette.**

- **Enhver prøve som leses høyere enn den høyeste kalibratoren skal fortynnes og rettestes.** Etter fortynning må verdiene korreleres for fortynningsfaktoren.

Fig. 1 Typisk kalibreringskurve.

Denne kalibreringskurven er bare et eksempel.



Tabell 1

Beregning av resultater ved bruk av typiske data.

Dataene er bare et eksempel og må ikke brukes til å kalkulere prøvesvar.

Rør	MV cpm	cpm- NSB	%B/B₀	ICTP (µg/l)
Total	39445			
NSB	1397			
Kal 0	17333	15936		
Kal 1.0	15875	14478	90.9	
Kal 2.5	14078	12681	79.6	
Kal 5.0	11215	9818	61.6	
Kal 10	8489	7092	44.5	
Kal 25	5482	4085	25.6	
Kal 50	3334	1937	12.2	
Ukjent 1	9494	8097	50.8	7.6
Ukjent 1	6046	4649	29.2	20.9

10. PROSEDYREBEGRENSNINGER

ICTP verdiene kan variere i løpet av døgnet, resultatene kan være høyere om natten. Nyreinsuffisiens, glomerulus-filtrasjonshastighet på 50 ml/min/1,73 m² eller mindre medfører forhøyet ICTP konsentrasjon i blod. Det ser ikke ut som leveren medvirker ved metabolismen av serum ICTP antigen.

Ved diagnostiske og terapeutiske beslutninger må ICTP resultatene kompletteres med andre klinisk relevante data.

11. FORVENTEDE VERDIER

På grunn av etnisk, kost og aldersvariasjoner kan de angitte referansegrenser ikke anvendes til alle populasjoner. Derfor bør hvert laboratorium etablere sine egne representative referansegrenser.

ICTP verdiene fra tilsynelatende friske voksne (19–74 år) er analysert med ICTP RIA kitet. For å kalkulere referanseintervall for den øvre og nedre grense er den IFCC anbefalte "non-parametriske metode" anvendt.

Tabell 2 Serum ICTP referansegrenser

	Kvinner	Menn
Antall pasientprøver	146	125
Middelverdi	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Referanseintervall*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
0,90-confidensintervaller for nedre referanseintervall	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
for øvre referanseintervall	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

* Referanseintervall = 0,025 & 0,975 fraktiler

ICTP verdier hos barn stammer fra en populasjon friske barn i alderen 0 til 18 år (ikke publiserte data). Verdiene er kun veiledende.

Tabell 3 Typiske serum ICTP verdier hos barn

Aldersgrupper		Lave verdier (µg/l)	MV (µg/l)	Høye verdier (µg/l)
Gutter og jenter	0–3 måneder	51	61	71
	3–6 måneder	23	32	40
	6–12 måneder	15	22	30
	1–2 år	12	16	20
	2–9 år	7	11	16
Gutter	9–13 år	8	11	15
	13–16 år	10	16	23
	16–18 år	8	9	11
Jenter	9–11 år	9	12	15
	11–14 år	10	13	16
	14–16 år	6	10	14
	16–18 år	4	5	7

12. KARAKTERISKE EGENSKAPER

Resultatene som er vist nedenfor er typiske data oppnådd hos Aidian.

Måleområde

1,0–50 µg/l.

Deteksjonsgrense

Bedre enn 0.6 µg/l.

Kvantiteringsgrense

ca. 1.8 µg/l.

Linearitet

Fem serumprøver med høy konsentrasjon ble serielt fortynnet med fem serumprøver med lav konsentrasjon. Gjennomsnitt recovery var 102 %.

Utbytte

Kjent mengde av ICTP ble tilsatt til tre serumpasientprøver med lav konsentrasjon. Gjennomsnittlig utbytte var 109 %.

Presisjon

Innen- og mellom-serievariasjoner ble bestemt på serumprøver med forskjellige konsentrasjoner av ICTP.

Tabell 4 Innen-serie / mellom-serie presisjon

Innenserie presisjon ved 20 replikater			Mellomserie presisjon ved 10 dobbelt-bestemmelser		
Prøve	MV (µg/l)	CV (%)	Prøve	MV (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.4	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Interferenser

Serumbilirubin konsentrasjon < 400 µmol/l interferer ikke. Serumhemoglobin konsentrasjon på opp til 5 g/l interferer ikke. Triglycider < 5 g/l interferer ikke. Analyse av lipemiske prøver anbefales ikke.

Spesifisitet

Antigen determinanten i antistoffet er innen de to hydrofobe fenylalaninrike sekvenser av den trivalente tverrbundne ICTP. En trivalent tverrbinding er nødvendig, ettersom de divalente tverrbundne og monomere peptider som inneholder kun en fenylalaninrik sekvens viser dårlig immunreaksjon. ICTP RIA antiserumet kryssreagerer ikke med antigener som anvendes i andre UniQ Collagen kit.

13. SPORBARHET

Analytten i UniQ ICTP RIA Calibrators er laget fra produsentens in-house kalibratorer som prepareres fra rensset ICTP med verdi bestemt ved hjelp av aminosyre komposisjonsanalyse.

14. AVHENDING

- Innholdet skal avhendes i samsvar med nasjonal og lokal lovgivning.
- Alle pasientprøver, brukte kyvetter og prøveflasker skal håndteres og avhendes som potensielt smittefarlig materiale.
- Radioaktivt avfall må avhendes i samsvar med gjeldende lovgivning.
- Materialer i komponentene:
 - Papir: pakningsvedlegg
 - Papp: esken til testsettet
 - Plast: Flaske med separasjonsreagens, korker til flaskene
 - Gummi: Gummikorkene i kontrollglassene
 - Glass: tracer, antiserum, kalibrator, kontrollflasker
 - Skumgummi
- Når de brukes i samsvar med god laboratoriepraksis, god yrkeshygiene og instruksjonene i denne bruksanvisningen, utgjør de medfølgende reagensene ingen helsefare.

UniQ® ICTP RIA

C-terminal telopeptide of type I collagen, Radioimmunoassay kit

1. ANVENDELSE

UniQ ICTP RIA er et kvantitativt radioimmunoassay bestemt til måling af carboxyterminal tværbundet telopeptid af type I collagen koncentration in humant serum. **Til *in vitro* diagnostisk brug.**

2. BAGGRUND

Type I collagen er den collagen type, som er mest forekommende i kroppen og den eneste collagen type, som forekommer i mineraliseret knogle, hvor den udgør mere end 90 % af den organiske matrix. Desuden forekommer type I collagen i løst bindevæv sammen med andre collagen typer såsom type III, V og VI. Også i disse væv er andelen af type I collagen størst.

Type I collagen forekommer i væv i fibre, hvor strukturen varierer beroende på vævstypen. I knogle er type I collagen molekylerne tværbundne via tre rester af hydroxylysin, lysin eller deres derivater. Disse danner et fluorescerende, cyklisk pyridinolin-struktur og ikke-fluorescerende ukendt strukturer, som binder tre forskellige collagene polypeptid-kæder sammen. I løst bindevæv, som hud, er den vigtigste udviklede tværbinding af type I collagen ikke-fluorescerende og indeholder histidin som en af aminosyreresterne.

ICTP er den carboxyterminale telopeptidregion af type I collagen, som er forenet via trivalente tværbindinger og frigøres ved nedbrydning af modnet type I collagen. Dette peptid kan i blod påvises i en immunkemisk intakt form, hvor det synes at være derivet fra knogleresorption og nedbrydning af løst bindevæv. Det er for nyligt blevet påvist, at ICTP antigenet dannes gennem aktionen af f.eks. matrix metalloproteinaser, der er enzymer, og som medvirker i nedbrydningen af væv ved varierende patologiske forhold.

Øget ICTP serumkoncentrationer forekommer ved tilstande forenelige med øget nedbrydning af knoglevæv, såsom ved multiple myeloma, osteolytiske metastaser, rheumatoid arthritis og f.eks. immobilisering. Eftersom ICTP ikke dannes gennem fysiologisk, katepsin-K medieret knogleresorption, er dets koncentration mindre påvirket af f.eks. menopause.

3. TESTPRINCIP

UniQ ICTP RIA kit er baseret på kompetitativ radioimmunoassay teknik. En kendt mængde af mærket ICTP og en ukendt mængde af umærket ICTP i prøven konkurrerer om et begrænset antal specifikke bindingspladser på antistoffet. Efter separering af det ubundne antigen, er mængden af mærket ICTP i prøverørerne omvendt proportional med mængden af ICTP i prøven. Koncentrationerne i de ukendte prøver fås fra en standardkurve.

4. REAGENS

UniQ® ICTP RIA, Cat. No. 68601

Komponent navn og oprindelse	Symbol	 100	Stabilitet ved 2...8°C	
			Uåbnet	Åbnet
Tracer	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktivt < 200 kBq	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	6 uge
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	6 uge
Kalibrator	CAL xx µg/l	7 x 0.75 ml	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	6 uge
Kontrol ORIG HUM	CONTROL #	2 x 1.0 ml	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	1 uge efter rekonstruering
ICTP RIA Separations-reagens	REAG SEPAR	60 ml	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	6 uge
Brugsvejledning				

Reagenserne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Se afsnit 5 "Advarsler og forholdsregler".

Forberedelse af reagens

Kontrollerne er lyophiliseret. Alle andre reagenser er klar til brug

Sørg for at kontrolflaskerne har stuetemperatur (18...25°C) før de åbnes. Tilsæt 1,0 ml destilleret vand til hver af flaskerne. Luk flaskerne og ryst forsigtigt og undgå at det skummer. Før brug, skal flaskerne henstå i 30 minutter.

Reagensforringelse

Ændringer i reagensernes fysiske udseende eller i kalibreringskurvens hældning eller kontrolserumværdier, der falder uden for det af producenten accepterede område, kan være tegn på reagensustabilitet. Brug ikke reagenser, hvis der er mistanke om forringet reagenskvalitet.

5. ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Oplysninger om sundhed og sikkerhed

- Kun til diagnostisk brug *in vitro*.
- Undlad at mundpipettere.
- Alle patientprøver og -kontroller skal håndteres som potentielt smittefarligt materiale.
- Kontrollerne indeholder materiale af human oprindelse, der er testet negativt for antistoffer mod human immundefektvirus (anti-HIV 1 og 2), hepatitis C-virus (HCV) og overfladeantigener til hepatitis B-virus (HBsAg). Kontrollerne skal som en sikkerhedsforanstaltning håndteres, som om det kan være smittebærende.

- Frysetørrede reagenser indeholder < 1 % natriumazid (Aquatic Chronic 3). Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger (H412). Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre (EUH032). Undgå udledning til miljøet (P273). Indholdet bortskaffes i overensstemmelse med nationale og lokale bestemmelser (P501). Azider kan reagere med metall i avløpsrør og danne eksplosive forbindelser. Opphopning av azider kan unngås ved å bruke rikelig med vann når reagensene tømmes ut.
- Rehydrerte reagenser og reagenser i væskeform inneholder natriumazid < 0,1 %, en konsentrasjon som betraktes som ufarlig.
- Kittet indeholder ^{125}I (halveringstid $T_{1/2}$ af 60 dage), som afgiver 35,5 keV gammastråler og 27–32 keV røntgenstråler. Radioaktivt materiale, der indgår i dette kit, må kun modtages, erhverves, ejes og anvendes af læger, kliniske laboratorier, forskningsinstitutioner eller hospitaler, og må kun bruges til kliniske test in vitro eller laboratorietest in vitro, som ikke omfatter indvortes indgift eller udvortes anvendelse af materialet eller stråling derfra til mennesker eller dyr. Alt radioaktivt materiale skal opbevares og håndteres i områder, der er specifikt beregnet til dette formål. Indkøb, opbevaring, anvendelse eller udveksling af radioaktive produkter skal foregå i henhold til den gældende lovgivning i brugerens land.
- Spild af radioaktivt materiale skal straks fjernes med et rengøringsmiddel, og de forurenedes rengøringsmaterialer skal overføres til en beholder til radioaktivt affald eller håndteres i henhold til anbefalingerne fra de danske myndigheder.
- Radioaktivt affald skal kasseres i henhold til gældende lovgivning. Der henvises til de gældende regler og procedurer for virksomhedens håndtering, opbevaring og bortskaffelse af radioaktivt materiale i forhold til stråling.

Forholdsregler ved analyse

- Produktet må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på den ydre emballage.
- Åbnede reagenser må ikke anvendes ud over stabilitetsperioden.
- Bland ikke komponenter fra forskellige lotnumre eller fra forskellige test.

6. PRØVETAGNING OG FORBEREDELSE

Der er ikke behov for særlig forberedelse af patienten inden prøvetagning.

Der skal bruges serum, og en normal venøs blodprøve skal udtages ved hjælp af en accepteret medicinsk teknik i overensstemmelse med de normale forsigtighedsregler for venepunktur. Analysen må ikke udføres med plasmaprøver.

Stærkt lipæmiske, hæmolytiske eller mikrobielt kontaminerede patientprøver skal undgås.

Prøvehåndtering og -opbevaring

Når prøven er udtaget, skal blodet størkne, og serumet udskilles ved centrifugering. Serumprøver kan opbevares i op til 5 dage ved 2...8°C. Ved længere perioder skal det opbevares ved –20°C eller derunder. Gentagen nedfrysning og optøning skal undgås.

Prøver med høje ICTP-koncentrationer kan fortyndes med 0,9 % saltvand.

7. PROCEDURE

Se kapittel 4 "Reagenser", for en liste af reagenser.

Nødvendige materialer, som ikke indgår i kittet.

- Pipetter (100 µl, 200 µl, 500 µl og 1000 µl)
- Testrør (polystyren)
- Absorberende papir
- Paraffin film
- Vortex Mixer
- Vandbad (ved $37 \pm 1^\circ\text{C}$)
- Decanteringsstativ
- Centrifuge (mindst ved 2000 g)
- Gammataæller
- Distilleret vand

Instrumenter

Enhver gammataæller som måler ¹²⁵I kan bruges. Instrumentets måleegenskaber og baggrundsstrålingen bør regelmæssigt checkes. Det anbefales at kalibrere instrumentet systematisk. Læs instrumentets manual for detaljer vedrørende installering, anvendelse, vedligeholdelse og kalibrering.

Procedure detaljer

1	Sørg for at alle reagenser, kontroller og prøvemateriale har nået stuetemperatur ($18...25^\circ\text{C}$) mindst 30 min. før brug.
2	Mærk testrørene dobbelt for NSB (ikke-specifik binding), kalibratorer, kontroller, patientprøver og total.
3	Pipetter 100 µl af kalibrator, kontrol eller patientprøve i de beregnede rør. Ligegyldigt hvilken af patientprøverne kan pipetteres i NSB rørene.
4	Pipetter 200 µl af tracer (rød) i alle rørene.
5	Pipetter 200 µl af antiserum (blå) i alle rørene undtagen NSB og total. Pipetter 200 µl af destilleret vand i NSB rørene.
6	Miks alle rør på en vortex mixer, dækket med paraffin film og inkuber i 2 timer ved $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
7	Miks separations reagenset grundigt ved at vende røret og tilsæt 500 µl til alle rør undtagen totalen.
8	Miks rørene på en vortex mixer og inkuber i 30 minutter ved $18...25^\circ\text{C}$.
9	Centrifuger alle rør undtagen totalen i 30 minutter ved 2000 g (minimum) ved $4...20^\circ\text{C}$ (4°C anbefales).
10	Dekanter supernatanten fra alle rør undtagen totalerne ved samtidig inversion. Aftør rørene forsigtigt mod et absorberende materiale og lad rørene dræne et par sekunder for at fjerne evt. tilbageværende væske. Vær opmærksom på ikke at dekantere noget af bundfaldet. Vend ikke rørene efter de er stillet oprejst. Fejl ved dekantering eller aftørring af rørene kan resultere i dårlig replikering og fejlagtige værdier
11	Mål hvert rør med en gammataæller i mindst 1 minut eller indtil 10.000 counts pr. rør er opnået.
12	Beregn resultaterne som beskrevet i afsnittet 'Beregning af resultater'.

Testprocedure – kortfattet

(alle volumener angivet i µl)

	Total	NSB	Kalibrator	Kontrol & Ukendt
Pipetter prøve		100	100	100
Pipetter tracer (rød)	200	200	200	200
Pipetter antiserum (blå)			200	200
Pipetter destilleret vand		200		
Miks		x	x	x
Inkuber 2 timer / 37°C		x	x	x
Pipetter separationsreagens		500	500	500
Miks		x	x	x
Inkuber 30 min / 18...25°C		x	x	x
Centrifuger 30 min / 2000 g		x	x	x
Dekanter		x	x	x
Mål 1 min eller 10.000 counts	x	x	x	x

8. KVALITETSKONTROL

Det anbefales, at alle kliniske laboratorier har et internt kvalitetssikringsprogram. Det foreslås således, at analysen af kontrolsera i både den øverste og nederste del af kalibreringskurven anvendes til overvågning af procedures ud-førelse. UniQ ICTP RIA-analysen giver to kontrolmaterialer: ICTP RIA Control 1 og 2. De forventede kontrolområder er anført på et separat ark, der følger med analysen. Det anbefales, at de enkelte laboratorier fastsætter acceptable områder for de kontroller, der anvendes i det pågældende laboratorium. Kontrollens middelværdi skal ligge inden for det accepterede område, der er fastsat af Aidian. Det tilrådes at bruge mindst to forskellige kitlot-numre til kontrol-værditildeling. Når kontrolområderne er fastsat, skal kontrollerne køres in duplo med hver analyse.

9. BEREGNING AF RESULTATER

Til automatisk beregning af resultater anbefales en "spline-funktionskurve tilpasning". Resultaterne kan også beregnes manuelt på semi-logaritmisk papir.

- **Beregn** middelværdien for alle kalibratorer, prøver og kontroller.
- **Beregn** % B/B₀ fra:

$$\%B/B_0 = \frac{\text{kalibrator eller prøve counts} - \text{NSB}}{\text{0-kalibrator counts} - \text{NSB}} \times 100$$

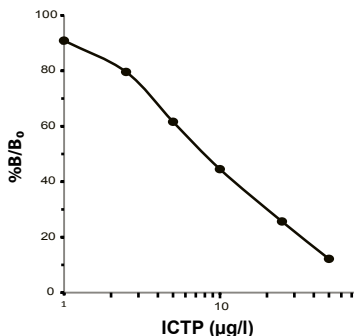
hvor B er den bundne radioaktivitet for en prøve eller kalibrator, B₀ er den bundne radioaktivitet for kalibrator 0 og NSB er radioaktiviteten for den ikke-specifikke binding.

- **Tegn** en kalibreringskurve på semi-logaritmisk papir med % B/B₀ værdierne på ordinaten og ICTP koncentrationer (µg/l) af kalibratorerne på abscissen.

- **Aflæs** ICTP koncentrationen af de ukendte fra kalibreringskurven.
- **Ethvert prøveresultat lavere end den laveste kalibrering, skal rapporteres som sådan.**
- **Ethvert prøveresultat højere end den højeste kalibrator, skal fortyndes og analyseres igen.** Efter fortynding skal værdierne korrigeres for fortyndingsfaktoren.

Fig. 1 Typisk kalibreringskurve

Denne kalibreringskurve er kun til illustration.



Tabel 1 Beregning af resultater ved typiske data.

Disse data er kun til illustration og må ikke anvendes til beregning af nogen prøve resultat.

Rør	MV-cpm	cpm-NSB	%B/B₀	ICTP (µg/l)
Total	39445			
NSB	1397			
Kal 0	17333	15936		
Kal 1.0	15875	14478	90.9	
Kal 2.5	14078	12681	79.6	
Kal 5.0	11215	9818	61.6	
Kal 10	8489	7092	44.5	
Kal 25	5482	4085	25.6	
Kal 50	3334	1937	12.2	
Ukendt	9494	8097	50.8	7.6
Ukendt	6046	4649	29.2	20.9

10. BEGRÆNSNINGER AF PROCEDUREN

ICTP værdierne kan variere indenfor et døgn, således at resultaterne kan være højere om natten. Nyreinsufficiens, glomerulusfiltrations hastighed på 50 ml/min/1,73 m² eller mindre medfører forhøjet ICTP koncentration i blod. Leveren synes ikke at medvirke ved metabolismen af serum ICTP-antigen. Som basis for diagnostiske og terapeutiske beslutninger, bør der ved alle enkelt testresultater komplementeres med andre kliniske relevante data.

11. REFERENCEBEGRÆNSNINGER

Som følge af etniske, kostrelaterede og aldersvariationer, vil det opgivne referenceniveau ikke gælde for alle populationer. Derfor bør alle laboratorier etablere deres egne referenceniveauer.

ICTP værdierne fra formodentlige raske voksne (19–74 år) er analyseret med ICTP RIA kitted. Til at kalkulere referenceniveauet for den øvre og nedre grænse er den af IFCC anbefalede "non-parametriske metode" anvendt.

Tabel 2 Serum ICTP referencegrænser

	Kvinder	Mænd
Antal patientprøver	146	125
Middelværdi	3.5 µg/l	3.2 µg/l
Referenceinterval*	2.1–5.6 µg/l	2.1–5.0 µg/l
0,90-konfidensintervaller for nedre referencegrænse	2.1–2.4 µg/l	1.9–2.2 µg/l
for øvre referencegrænse	4.9–6.2 µg/l	4.4–5.7 µg/l

*Referenceinterval = 0.025 & 0.975 fraktiler

ITCP værdier hos børn stammer fra en population af raske børn i alderen fra 0 til 18 år (ikke publicerede data). Værdierne er kun vejledende.

Table 3 Typiske ICTP værdier hos børn

Aldersgrupper		Lave værdier (µg/l)	MV (µg/l)	Høje værdier (µg/l)
Drenge og piger	0–3 måneder	51	61	71
	3–6 måneder	23	32	40
	6–12 måneder	15	22	30
	1–2 år	12	16	20
	2–9 år	7	11	16
Drenge	9–13 år	8	11	15
	13–16 år	10	16	23
	16–18 år	8	9	11
Piger	9–11 år	9	12	15
	11–14 år	10	13	16
	14–16 år	6	10	14
	16–18 år	4	5	7

12. KARAKTERISKE EGENSKABER

De nedenstående foreliggende resultater er opnået hos Aidian og gengiver typiske data.

Måleområde

1,0–50 µg/l.

Detektionsgrænse

Bedre end 0,6 µg/l.

Kvantificeringsgrænse:

Ca. 1,8 µg/l.

Linearitet

Fem høj koncentreret serum prøver blev serielt fortyndet med fem lavt koncentreret serum prøver. Prøvernes gennemsnitlige genfindning var på 102 %.

Genvinding

En kendt mængde ICTP blev tilsat til tre lav koncentreret patient serum prøver. Den gennemsnitlige genvinding var 109 %.

Præcision

Intra- og inter-assay variationer bestemmes på serumprøver med forskellige koncentrationer af ICTP.

Tabel 4 Intra-assay / Inter-assay præcision

Intra-assay præcision af 20 gentagelser			Inter-assay præcision af 10 dobbeltbestemmelser		
Prøve	MV (µg/l)	CV (%)	Prøve	MV (µg/l)	CV (%)
1	3.3	7	4	4.3	10
2	7.8	5	5	12.1	8
3	45.0	5	6	24.4	8

Interferenser

Serumbilirubin koncentration < 400 µmol/l interferer ikke. Serumhæmoglobin koncentration op til 5 g/l interferer ikke. Triglycerider < 5 g/l interferer ikke. Analyse af lipæmiske prøver anbefales ikke.

Specifitet

Antigen determinanten i antistoffet er indeni de to hydrofobe fenylalaninrige sekvenser i den trivalente tværbundne ICTP. En trivalent tværbinding er nødvendig, eftersom de divalente tværbundne og monomere peptider indeholdende kun en fenylalaninrig sekvens viser dårlig immunreaktion. ICTP RIA antiserummet krydsreagerer ikke med antigener som anvendes i andre UniQ Collagen kits.

13. SPORBARHED

Målestørrelsen (analytten) i UniQ ICTP RIA-kalibrаторer kan spores til producentens fungerende kalibrаторer, der er præpareret af højt oprenset ICTP, hvis værdi tildeles ved at analysere sammensætningen af aminosyrer.

14. BORTSKAFFELSE

- Innholdet skal afhendes i samsvar med nasjonal og lokal lovgivning.
- Alle patientprøver, brugte kuvetter og hætteglas til prøvetagning skal håndteres og bortskaffes som potentielt smittefarligt materiale.
- Radioaktivt affald skal kasseres i henhold til gældende lovgivning.
- Materiale i komponenterne:
 - Papir: Brugsanvisning
 - Karton: Æske til kittet
 - Plastic: Separationsreagensflasker, låg til flasker
 - Gummi: Stopperer
 - Glas: Tracer, antiserum, kalibrатор, kontrolflasker
 - Skumgummi
- Hvis god laboratoriepraksis, gode hygiejnestandarder og brugsvejledningen følges, bør de medfølgende reagenser ikke udgøre en sundhedsrisiko.

Literature

- Abildgaard N et al.** Comparison of five biochemical markers of bone resorption in multiple myeloma: elevated pre-treatment levels of s-ICTP and u-Ntx are predictive for early progression of the bone disease during standard chemotherapy. *Br J Haematol* 2003;120:235-242.
- Abildgaard N et al.** Serum markers of bone metabolism in multiple myeloma: prognostic value of the carboxy-terminal telopeptide of type I collagen (ICTP). *Br J Haematol* 1997;96:103-110.
- Aruga A et al.** Usefulness of bone metabolic markers in the diagnosis and follow-up of bone metastasis from lung cancer. *Br J Cancer* 1997;76:760-764.
- Berruti A et al.** Differential patterns of bone turnover in relation to bone pain and disease extent in bone in cancer patients with skeletal metastases. *Clin Chem* 1999;45:1240-1247.
- Engler H et al.** Diagnostic and prognostic value of biochemical markers in malignant bone disease: A prospective study on the effect of bisphosphonate on pain intensity and progression of malignant bone disease. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:879-885.
- Fonseca R et al.** Prognostic value of serum markers of bone metabolism in untreated multiple myeloma patients. *Br J Haematol* 2000;109: 24-29
- Hakala M et al.** Application of markers of collagen metabolism in serum and synovial fluid for assessment of disease process in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1995;54:886-890.
- Hakala M et al.** Increased type I collagen degradation correlates with disease severity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1993;52:866-869.
- Horiguchi T et al.** Usefulness of serum carboxy-terminal telopeptide of type I collagen (ICTP) as a marker of bone metastasis from lung cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2000;30:174-179.
- Jakob C et al.** Serum levels of carboxy-terminal telopeptide of type-I collagen are elevated in patients with multiple myeloma showing skeletal manifestations in magnetic resonance imaging but lacking lytic bone lesions in conventional radiography. *Clin Cancer Res* 2003;9:3047-3051.
- Keskikuru R et al.** Preoperative high type I collagen degradation marker ICTP reflects advanced breast cancer. *Anticancer Res* 1999;19:4481-4484.
- Kobayashi T et al.** Type I collagen metabolites as tumor markers in patients with lung carcinoma. *Cancer* 1999;85:1951-1957.
- Koga H et al.** Use of bone turnover marker, pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP), in the assessment and monitoring of bone metastasis in prostate cancer. *The Prostate* 1999;39:1-7.
- Koizumi M et al.** Bone metabolic markers in bone metastasis of breast cancer. *Int J Clin Oncol* 1999;4:331-337.
- Koizumi M et al.** Bone metabolic markers in the evaluation of bone scan flare phenomenon in bone metastases of breast cancer. *Clin Nucl Med* 1999;24:15-20.
- Kymälä T et al.** Type I collagen degradation product (ICTP) gives information about the nature of bone metastases and has prognostic value in prostate cancer. *Br J Cancer* 1995;71:1061-1064.
- Maeda H et al.** Correlation between bone metabolic markers and bone-scan in prostatic cancer. *J Urology* 1997;157:539-543.
- Maemura M et al.** Serum concentration of pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen in patients with metastatic breast cancer. *Oncology Reports* 2000;7:1333-1338.
- Noguchi M et al.** Serum levels of bone turnover markers parallel the results of bone scintigraphy in monitoring bone activity of prostate cancer. *Urology* 2003;61:993-998.

Okamura T et al. The efficacy of a serum carboxyterminal pyridinoline cross-linked telopeptide of type I collagen as a quantitative screening marker for bone metastases in patients with urological malignancies. *Cancer Det Prev* 2003;27:14-18.

Rauchenzauner M et al. Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92: 443-449.

Risteli J et al. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen: A new serum marker of bone resorption. *Clin Chem* 1993;39:635-640.

Santala M et al. Type I and type III collagen metabolites as predictors of clinical outcome in epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:4091-4096.

Sassi M-L et al. Assay for cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) unlike CrossLaps assay reflects increased pathological degradation of type I collagen in rheumatoid arthritis. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1038-1044.

Sassi M-L et al. Immunochemical characterisation of assay for carboxyterminal telopeptide of human type I collagen: Loss of antigenicity by treatment with cathepsin-K. *Bone* 2000;26:367-373.

Shimozuma K et al. Biochemical markers of bone turnover in breast cancer patients with bone metastases: A preliminary report. *Jpn J Clin Oncol* 1999;29:16-22.

St Clair et al. A cross sectional analysis of 5 different markers of collagen degradation in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1998;25:1472-1479.

Voorzanger-Rousselot N et al. Association of 12 serum biochemical markers of angiogenesis, tumour invasion and bone turnover with bone metastases from breast cancer: a cross-sectional and longitudinal evaluation. *Br J Cancer* 2006;95:506-514.

Ylissirniö S et al. Serum type I collagen degradation markers, ICTP and CrossLaps, are factors for poor survival in lung cancer. *Anticancer Res* 1999;19:5577-5582.

Aman S et al. Prediction of disease progression in early rheumatoid arthritis by ICTP, RF and CRP. A comparative 3-year follow-up study. *Rheumatology* 2000;39:1009-1013.

UniQ® is a registered trademark of Aidian Oy.



AIDIAN

Aidian Oy
Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02200 Espoo, Finland
P.O. Box 83, FI-02101 Espoo, Finland
+358 10 309 3000, aidian.eu

