

Immunoensayo

REF CMM0201/CMM0202/CMM0203/ CMM0204/ CMM0205

50 tests* / 100 tests* / 100 tests* 2 / 100 tests* 5 / 50 tests* 2

Col IV CLIA Micropartículas

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) para la determinación cuantitativa de Col IV (Colágeno IV) en suero humano.

Todas las marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños

Clave de los símbolos gráficos utilizados			
	Código de lote		Uso
	Fabricante		Contiene suficiente para <n> pruebas
	<i>in vitro</i> dispositivo médico de diagnóstico		Limitación de temperatura
	Numero catalogo		Consultar instrucciones de uso
	representante autorizado en la Comunidad europea		

	<p>OBELIS S.A. Bd. Général Wahis, 53 1030 Brussels Belgium</p>
	<p>AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD. No.87 Jingbei Yi Road National Eco & Tech Development Area Zhengzhou China 450016</p>



Para cualquier asistencia técnica, contáctenos en inglés

a: Correo electrónico: customerservice@autobio.com.cn

Comuníquese con su distribuidor local para todas las preguntas relacionadas con el producto en su idioma local.

Introducción

El colágeno IV es un tipo de colágeno que se encuentra principalmente en la lámina basal. El dominio C4 del colágeno IV en el extremo C no se elimina en el procesamiento postraduccional y las fibras se unen cabeza a cabeza, en lugar de hacerlo en paralelo. Además, el colágeno IV carece de la glicina regular en cada tercer residuo necesario para la hélice de colágeno apretada. Esto hace que la disposición general sea más descuidada con torceduras. Estas dos características hacen que el colágeno se forme en una hoja, la forma de la lámina basal. El colágeno IV es el uso más común, a diferencia de la terminología más antigua de "colágeno tipo IV". Hay seis genes humanos asociados con él.¹

La fibrosis y la cirrosis hepática están asociadas con el depósito de colágeno IV en el hígado. Las concentraciones séricas de colágeno IV se correlacionan con los niveles de colágeno IV en el tejido hepático en sujetos con enfermedad hepática alcohólica y hepatitis C y disminuyen después de una terapia exitosa.^{2,3}

Principio de medición

Este ensayo se basa en el método sándwich de dos pasos. En el primer paso, la muestra del paciente y la solución de micropartículas se agregan al recipiente de reacción. Después del lavado, se añadió el conjugado enzimático, durante la incubación, se deja que el Col IV presente en la muestra reaccione simultáneamente con los dos anticuerpos, lo que hace que el antígeno Col IV quede intercalado entre los anticuerpos recubiertos con micropartículas y los anticuerpos marcados con enzima. Después del lavado, se genera un complejo entre la fase sólida, el Col IV dentro de la muestra y los anticuerpos ligados a enzimas por reacciones inmunológicas. A continuación, se añade el sustrato quimioluminiscente y este complejo lo cataliza, lo que da como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. El RLU es proporcional a la concentración de Col IV en la muestra del paciente.

Materiales proporcionados

1. Calibradores

5 viales que contienen cada uno 1.0 mL de calibrador A a E. La matriz es tampón PBS (solución tampón de fosfato) que contiene caseína. Contiene conservante ProClin 300®.

Los calibradores se proporcionan listos para usar.

2. Paquete de reactivos

El paquete de reactivos se proporciona listo para usar.

	50*1	100*1	100*2	100*5	50*2
Solución de micropartículas	1.2mL*1	2.3mL*1	2.3 mL*2	2.3 mL*5	1.2mL*2
Enzima Conjugado	5.5mL*1	11.0mL*1	11.0mL*2	11.0mL*5	5.5mL*2

• Solución de micropartículas

Los anticuerpos monoclonales de ratón recubrieron micropartículas en tampón PBS (solución tampón de fosfato) que contenía BSA (albúmina de suero bovino). Contiene conservante ProClin 300®.

• Conjugado enzimático

Anticuerpos monoclonales de ratón marcados con HRP (peroxidasa de rábano picante) en tampón Hepes que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene conservante ProClin 300®.

• Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

- AutoLumo A2000 Plus
- AutoLumo A2000 Plus B
- AutoLumo A1000

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA)

está diseñado para su uso en Assay Analyzer, que es AutoLumo A2000 Plus, AutoLumo A2000 Plus B o AutoLumo A1000.

Materiales necesarios pero no proporcionados

1. Analizador de ensayo
2. Vaso (s) de reacción para la reacción de la muestra y el reactivo
3. Tubo (s) de muestra o taza (s) para muestra que contiene
4. Sustrato quimioluminiscente
5. System Wash para lavar la aguja de pipeteado
6. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
7. Agua destilada o desionizada

Trazabilidad metroológica de calibradores

El mensurando o analito en estos calibradores Col IV es trazable a los calibradores de trabajo del fabricante. El proceso de trazabilidad se basa en la norma EN ISO 17511. Los valores asignados se establecieron utilizando muestras representativas de este lote de calibrador y son específicos de las metodologías de ensayo de los reactivos. Los valores asignados por otras metodologías pueden ser diferentes. Tales diferencias, si están presentes, pueden deberse a un sesgo entre métodos.

Advertencias y precauciones

1. Solo para uso profesional.
2. Siga cuidadosamente las instrucciones de uso. No se puede garantizar la confiabilidad de los resultados del ensayo si hay alguna desviación de las instrucciones de estas instrucciones de uso.
3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y el etiquetado del producto para conocer los peligros químicos que puedan estar presentes en este ensayo.
4. Manipule los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. PRECAUCIÓN: los calibradores contienen material de origen humano, que ha sido probado y no reactivo para los anticuerpos del VIH 1 y VIH 2, anticuerpos del VHC y sífilis y HBsAg. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos. Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos proceden de países donde no se ha informado de encefalopatía espongiforme bovina (EEB).
6. Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel, que debe evitarse al contacto con la piel. Este material y su recipiente deben eliminarse de forma segura. En caso de ingestión, busque atención médica inmediatamente y muestre este envase o etiqueta.
7. No fume, beba, coma ni utilice cosméticos en el área de trabajo.
8. Utilice ropa protectora y guantes desechables cuando manipule muestras y reactivos. Lávese las manos después de las operaciones.
9. Realice el ensayo lejos de las malas condiciones ambientales. p.ej. aire ambiente que contiene gas corrosivo de alta concentración, como ácido hipoclorito de sodio, alcalino, acetaldehído, etc., o que contiene polvo.
10. No utilice reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
11. No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
12. Cuando guarde los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
13. Asegúrese de que las micropartículas se vuelvan a suspender antes de cargarlas en el analizador.
14. Evite la formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
15. No sustituya ningún reactivo de este kit de otros fabricantes u otros lotes.
16. Cuando se observe algún daño en el embalaje protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico, no utilice el kit.

Almacenamiento

1. Guarde el kit a 2-8 °C. No congelar. Evite la luz fuerte. Cuando se almacena según las instrucciones, todos los reactivos son estables hasta la fecha de vencimiento.
2. Refrigere el paquete de reactivo a 2-10 °C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
3. Almacene el paquete de reactivos sin sellar en posición vertical sobre el analizador o 2-10 °C durante un máximo de 28 días. Después de 28 días, se debe desechar el paquete de reactivos. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-10 °C en posición vertical.
4. Selle y devuelva los calibradores restantes a 2-8 °C inmediatamente después del experimento, bajo cuyas condiciones se mantendrá la estabilidad durante 2 meses.

Muestra

1. Las muestras de plasma recogidas en tubos que contienen EDTA, heparina o citrato de sodio tienen interferencia con este ensayo.
2. Recoja las muestras de acuerdo con las prácticas médicas correctas.
3. No utilice muestras inactivadas por calor. No utilice conservantes de azida de sodio en las muestras.
4. No utilice muestras con contaminación microbiana evidente.
5. Los sedimentos y los sólidos en suspensión en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que se haya producido una formación completa del coágulo en las muestras antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben terapia anticoagulante o trombolítica, pueden presentar un mayor tiempo de coagulación. Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo completo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Asegúrese de que las muestras no se deterioren antes de su uso.
6. Antes del envío, se recomienda que se extraigan muestras del coágulo o de los glóbulos rojos.
7. Un procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte pueden causar resultados deprimidos.
8. Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipeta desechables.
9. Evite las muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
10. Los anticuerpos heterofílicos y los factores reumatoideos en las muestras pueden interferir con los resultados de la prueba. Sin interferencia con 2 mg / ml de hemoglobina, 10 mg / dL de bilirrubina, 300 mg / dL de triglicéridos.
11. Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8 horas; para un uso prolongado, las muestras deben taparse y almacenarse a 2-8 °C hasta 8 horas. O congele las muestras que deben almacenarse o transportarse durante más de 48 horas a -20 °C. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas con un vórtex a baja velocidad o invirtiéndolas 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras, si observa estratificación o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Después de descongelar, lleve a temperatura ambiente y mezcle bien agitando suavemente.
12. Centrifugue las muestras descongeladas que contengan glóbulos rojos o partículas, o que tengan un aspecto turbio o turbio antes de usarlas para asegurar la consistencia de los resultados.
13. Tenga en cuenta que pueden estar presentes niveles interferentes de fibrina en muestras que no tienen partículas obvias o visibles.
14. Si no se puede verificar la recolección y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han interrumpido debido al transporte o manipulación de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deberían ser suficientes para eliminar las partículas.
15. Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras en busca de burbujas. Retire las burbujas con una punta antes del análisis. Utilice una punta nueva para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Procedimiento de medición

1. Verifique los materiales consumibles

- Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de ejecutar la prueba.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

2. Cargue el kit

- Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el analizador. Evite la formación de espuma en todos los reactivos. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.
- Lea el código de barras en el paquete de reactivo automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
- Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

3. Solicitar pruebas

- Coloque los tubos de muestra en la gradilla de muestras, 100 µL de muestras y calibradores para cada prueba. Pero considere el recipiente de muestra y 150 µL de volúmenes muertos del sistema, que se pueden consultar en los manuales del analizador de ensayo correspondientes para conocer el volumen mínimo de muestra requerido.
- Cargue la gradilla de muestras e ingrese la información de la muestra en la interfaz del software del sistema.
- Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador opera automáticamente las pruebas. Realiza las siguientes funciones:
 - Mueve la muestra al punto de ajuste
 - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso
 - Aspira y transfiere la muestra al recipiente de reacción
 - Agrega solución de micropartículas al recipiente de reacción
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción
 - Agrega conjugado enzimático
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción
 - Agrega sustrato quimioluminiscente
 - Mide la emisión quimioluminiscente para determinar la cantidad de Col IV en la muestra
 - Desecha el recipiente de reacción usado
 - Calcula el resultado
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

4. Calibre la curva

- El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivo automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
- Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
- Transfiera los calibradores a los tubos o tazas de muestra y colóquelos en la gradilla de muestras. Realice la detección de duplicados en el sistema.
- Cargue la gradilla de muestras y la información del calibrador de entrada en la interfaz del software del sistema.
- Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración, se requiere calibración cada 28 días.
- Una vez que se acepta y almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:
 - Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
 - Se utiliza un kit de reactivos y sustrato quimioluminiscente con un nuevo código de lote
 - Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
 - Se reemplazan o reparan partes importantes del instrumento.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

1. Diluir la muestra

Las muestras con un valor de Col IV superior a 1000 ng / mL se pueden diluir manualmente. Se utiliza suero negativo para diluir las muestras. Después de la dilución, multiplique el resultado por el factor de dilución.

Resultados de la medición

Los resultados de la prueba de muestra los determina automáticamente el software del sistema. La cantidad de Col IV en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida por medio de los datos de calibración almacenados. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos para revisar los datos almacenados.

Procedimiento de control

El requisito de control recomendado para este ensayo es comprar los materiales de control por separado y analizarlos junto con las muestras dentro de la misma serie. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos aceptables. Cuando un valor de control está fuera del rango especificado, puede indicar deterioro de los reactivos o errores en la técnica. Los resultados de las pruebas asociadas pueden no ser válidos y pueden requerir una nueva prueba. Puede que sea necesario realizar una recalibración del ensayo. Se recomienda que cada laboratorio establezca su rango aceptado para garantizar un rendimiento adecuado de la prueba.

Limitaciones del procedimiento

1. Este ensayo está destinado a ayudar al diagnóstico clínico. Realice este ensayo junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y otros resultados de la prueba.
2. Si los resultados no concuerdan con la evidencia clínica, se sugieren pruebas adicionales para confirmar el resultado.
3. Este ensayo fue diseñado y validado para su uso con suero humano de muestras individuales de pacientes y donantes. No se deben utilizar muestras agrupadas, ya que no se ha validado la precisión de los resultados de sus pruebas.
4. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 10-1000 ng / mL. Si se esperan concentraciones de Col IV por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con suero negativo, la dilución máxima es 1: 9 de esta prueba, lo que permite cuantificar las muestras hasta aproximadamente 10000 ng / ml.

Intervalo de referencia biológica

Se obtuvo un rango normal de menos de 95 ng / ml (intervalo de confianza del 95%) mediante muestras de 273 personas con diferente edad, sexo y sin antecedentes de enfermedad hepática. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que sirve, dependiendo de factores geográficos, del paciente, dietéticos o ambientales.

Características de presentación

Precisión de medición

Se analizaron 3 muestras clínicas (1, 2 y 3) y 3 controles de calidad (4, 5 y 6), usando 3 lotes de reactivo, en réplicas de dos en dos momentos distintos al día durante 20 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Lote	Miembro del panel	n	Media	Dentro de la arrera %CV	Total %CV
1	1	80	103.4	3.08%	3.72%
	2	80	259.1	3.27%	4.20%
	3	80	766.7	3.48%	4.26%
2	1	80	103.0	4.01%	4.22%
	2	80	260.8	4.55%	5.33%

3	1	80	102.2	4.52%	4.62%
	2	80	257.9	3.76%	5.51%
	3	80	764.7	4.19%	6.86%
1	4	80	100.3	3.32%	4.49%
	5	80	257.3	4.45%	4.59%
	6	80	767.7	3.24%	3.76%
2	4	80	102.8	4.03%	5.86%
	5	80	258.4	4.80%	4.69%
	6	80	761.3	3.86%	3.83%
3	4	80	102.3	3.09%	5.40%
	5	80	255.9	4.52%	5.66%
	6	80	761.4	2.36%	3.57%

1. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica, definida como la concentración correspondiente a las RLU medias de 20 réplicas del calibrador A más 2 desviaciones estándar, es ≤ 10 ng / mL.

Especificidad analítica

Reacción cruzada: este ensayo está diseñado para tener una especificidad analítica de menos de 10 pg / ml de reactividad cruzada con las sustancias enumeradas a continuación, a los niveles de concentración enumerados, en el diluyente calibrador.

Substancia	Concentración (ng/mL)	Valor medido (ng/mL)
HA	1000	<10
PIIINP	100	<10
LN	1000	<10

1. Correlación clínica

Se realizó un estudio en el que se analizaron muestras utilizando este ensayo y una prueba Col IV que ya estaba disponible en el mercado. Los datos se analizaron y se resumen en la siguiente tabla.

Metodo de correlación	Número de muestras	Interceptar	pendiente	Coefficiente de correlación
Regresión lineal	163	6.0768	0.9719	0.9689

Referencias literarias

1. Khoshnoodi J, Pedchenko V, Hudson BG (May 2008). "Mammalian collagen IV". *Microsc. Res. Tech.* 71 (5): 357-70.
2. Tsutsumi, M. "Serum markers for hepatic fibrosis in alcoholic liver disease: which is the best marker, type III procollagen, type IV collagen, laminin, tissue inhibitor of metalloproteinase, or prolyl hydroxylase?". *Alcoholism, clinical and experimental research* 20(9): 1512-7.
3. Yabu, K. "Serum collagen type IV for the assessment of fibrosis and resistance to interferon therapy in chronic hepatitis C.". *Scandinavian journal of gastroenterology* 29 (5): 474-9.