

Immunoensayo

REF CMM0101/CMM0102/CMM0103/CMM0104/CMM0105









50 tests* / 100 tests* / 100 tests* / 200 tests* / 50 tests* 2



PIINP CLIA Micropartículas

This Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) para la determinación cuantitativa de PIINP (péptido N-terminal de procolágeno III) en suero humano.

All trademarks are properties of their respective owners.

Clave de los símbolos gráficos utilizados

	Codigo de lote		uso para
	Fabricante		Contiene suficiente para <n> pruebas
	<i>in vitro</i> dispositivo médico de diagnóstico		temperature limitation
	Numero de 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 péptido procolágeno III N-terminal (PIIINP) se ha considerado un marcador de fibrogénesis y actividad inflamatoria del hígado. Los niveles séricos de PIIINP en algunos pacientes cirróticos se midieron antes, todos caracterizados completamente desde un punto de vista clínico y de laboratorio. Los pacientes cirróticos tenían niveles séricos de PIIINP significativamente más altos que los controles ($P < 0,0001$). De los pacientes cirróticos, el 73,5% había aumentado el PIIINP. Se encontró una correlación negativa significativa entre PIIINP y transaminasas, y los pacientes con valores normales de alanina aminotransferasa tenían niveles séricos de PIIINP más altos que aquellos con valores aumentados ($P = 0,03$). Por otro lado, no se encontró asociación significativa con hipertensión portal, clases de Child o enfermedad hepática alcohólica. Ningún factor independiente parece ser responsable del aumento de PIIINP. La medición del PIIINP en suero tiene poca o ninguna utilidad en la evaluación de pacientes cirróticos. 1,2,3

Principio de medición

Este ensayo se basa en el método competitivo de dos pasos. La muestra, las micropartículas recubiertas de antígeno, la solución de anticuerpo y el anticuerpo secundario marcado con enzima se añaden al recipiente de reacción. Durante la incubación, el antígeno marcado con micropartículas y el PIIINP presentes en la muestra compiten por unirse a los anticuerpos en la solución de anticuerpo. Después de lavar, en el segundo paso de incubación, la mezcla de reacción combinada con el anticuerpo secundario ligado a enzima, después de la incubación, se genera un complejo entre los antígenos marcados con micropartículas, la solución de anticuerpo y el anticuerpo ligado a enzima mediante 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 inversamente proporcional a la concentración de PIIINP 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.

1. Paquete de reactivos

El paquete de reactivos se proporciona listo para usar

	50*1	100*1	100*2	100*5	50*2
Microparticles Solution	1.2mL*1	2.3mL*1	2.3 mL*2	2.3 mL*5	1.2 mL*2
Enzyme Conjugate	5.5mL*1	11.0mL*1	11.0mL*2	11.0mL*5	5.5mL*2
Antibody Solution	3.0mL*1	5.5mL*1	5.5mL*2	5.5mL*5	3.0mL*2

● Microparticles Solution

PIIINP antigen coated microparticles in citrate buffer containing BSA (bovine serum albumin). Contains ProClin 300® preservative.

● Enzyme Conjugate

HRP (horseradish peroxidase) labeled Mouse anti-Rabbit Monoclonal Antibody in Tris buffer containing BSA (bovine serum albumin). Contains ProClin 300® preservative.

● Antibody Solution

Rabbit polyclonal antibody in Tris buffer containing fish gelatin. Contains ProClin 300® preservative.

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 metrológica de calibradores

El mensurando o analito en estos calibradores PIIINP 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. 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 cualquier daño al embalaje protector o cualquier cambio de se observa un 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. Evite las muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
9. Los anticuerpos heterofílicos y los factores reumatoideos en las muestras pueden interferir con los resultados de la prueba. Sin interferencia con 1 mg / ml de hemoglobina, 10 mg / dL de bilirrubina, 300 mg / dL de triglicéridos.
10. Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipeta desechables.
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 48 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 agitando con 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, 50 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.
 - 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 y solución de anticuerpos 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 PIIINP 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 de muestra y coloque los tubos de muestra 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 piezas importantes del analizador.
 - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
5. Diluir la muestra
 - Las muestras con un valor PIIINP superior a 100 ng / mL se pueden diluir manualmente. Se utiliza suero humano negativo para PIIINP para diluir las muestras.

After dilution, multiply the result by the dilution factor.

Resultados de la medición

Los resultados de la prueba de muestra los determina automáticamente el software del sistema. La cantidad de PIIINP en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida mediante 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 ser 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 1.5-100 ng / mL. Si las concentraciones de PIIINP están por encima del rango de medición esperado, se recomienda diluir las muestras con Diluent Universal o una muestra de baja concentración de PIIINP, la dilución máxima es 1: 9 de esta prueba, lo que permite cuantificar las muestras hasta aproximadamente 1000 ng / ml

Intervalo de referencia biológica

Se obtuvo un rango normal de menos de 15 ng / ml (intervalo de confianza del 95%) analizando 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 atiende, dependiendo de factores geográficos, del paciente, dietéticos o ambientales.

Características de presentación

1. Precisión de medición

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

lote	miembro panel	n	media	Dentro de carrera Total	
				%CV	%CV
1	1	80	18.56	4.85	6.77
	2	80	43.47	4.88	5.15
	3	80	79.72	2.40	4.72
2	1	80	18.94	4.78	5.99
	2	80	42.47	4.88	5.74
	3	80	75.86	4.86	6.47
3	1	80	18.58	4.57	6.40
	2	80	43.30	4.15	4.22

1	3	80	79.58	2.48	4.29
	4	80	15.52	4.32	5.50
	5	80	25.22	4.73	5.32
	6	80	61.55	4.94	5.36
2	4	80	15.60	4.83	5.57
	5	80	26.23	4.39	4.79
	6	80	60.90	4.90	5.63
3	4	80	15.22	3.24	4.47
	5	80	25.18	3.74	4.39
	6	80	61.56	3.97	4.21

1. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica, definida como la concentración correspondiente a las RLU medias de 20 réplicas del calibrador A menos 2 desviaciones estándar, es

$\leq 1,5$ ng / ml.

2. Especificidad analítica

Reacción cruzada: este ensayo está diseñado para tener una especificidad analítica de menos de 1,5 ng / ml de reactividad cruzada con las sustancias enumeradas a continuación, a los niveles de concentración enumerados, en el diluyente calibrador.

Sustancia	Concentración (ng/mL)	Valor medido (ng/mL)
HA	1000	<1.5
LN	1000	<1.5
Col IV	1000	<1.5

2. Correlación clínica

Se realizó un estudio donde se analizaron muestras utilizando este ensayo y una prueba PIIINP 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	624	0.7447	0.9795	0.9747

Referencias literarias

1. Annoni G, Cargnel A, Colombo M, Hahn EG (1986) Persistent elevation of the aminoterminal peptide of procollagen type III in serum of patients with acute viral hepatitis distinguishes chronic active hepatitis from resolving or chronic persistent hepatitis. J Hepatol 2:379-388.
2. Chang TT, Lin HC, Tsai YT, Lee SD, Lee FY, Jeng FS, Wu JC, Yeh PS, Lo KJ (1989) Clinical significance of serum type III procollagen aminopropeptide in hepatitis B virus-related liver diseases. Scand J Gastroenterol 24:533-538.
3. Child CG, Turcotte JG (1964) Surgery and portal hypertension. In: Child CG (ed) The liver and portal hypertension. Saunders, Philadelphia, pp 50-72.