











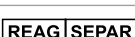
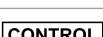
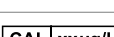
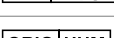
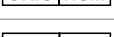
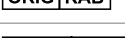

AIDIAN

UniQ[®] PIIINP RIA

Intact N-terminal propeptide of type III
procollagen, radioimmunoassay

Cat. No. 68570

Explanation of symbols • Abkürzungen auf den Etiketten und ihre Bedeutung
Explication des symboles • Explicación de los símbolos • Spiegazione dei simboli

	English	German	Français	Español	Italiano
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device	<i>In-vitro</i> Diagnostikum	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	Dispositivo medico diagnóstico <i>in vitro</i>
	Catalogue number	Artikelnummer	Référence	Número de catálogo	Numero di catalogo
	Batch code	Chargenbezeichnung	Lot	Número de lote	Lotto di produzione
	Use-by date	Verwendbar bis	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro
	Temperature limit	Temperaturbegrenzung	Limites de température	Limitación de temperatura	Limiti di temperatura
	Consult instructions for use	Nachschlagen in der Bedienungsanleitung	Consulter la notice d'utilisation	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni d'uso
	Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Produttore
	Sufficient for	Ausreichend für	Suffisant pour	Válido para	Sufficiente per
	Tracer	Tracer	Traceur	Trazador	Tracciante
	Antiserum	Antiserum	Antiserum	Antisero	Antisiero
	Separation Reagent	Trennreagenz	Réactif de séparation	Reactivo de separación	Reattivo di separazione
	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
	Calibrator concentration	Kalibrator-konzentration	Concentration de l'étalon	Concentración del calibrador	Concentrazione del calibratore
	Origin: human	Ursprung: menschlich	Origine: humaine	Origen: humano	Origin: humane
	Origin: rabbit	Ursprung: Kaninchen	Origine: lapin	Origen: conejo	Origin: coniglio
	Contains sodium azide	Enthält Natriumazid	Contient de l'azide de sodium	Contiene azida sódica	Contiene sodio azide
	Authorised representative in Switzerland	Autorisierter Vertreter in der Schweiz	Représentant autorisé en Suisse	Representante autorizado en Suiza	Rappresentante autorizzato in Svizzera

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

Česky	Polski	Svenska	Norsk	Dansk
Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>	Wyrob medyczny do diagnozy <i>in vitro</i>	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in vitro</i> -diagnostik	Medisinsk utstyr for <i>in vitro</i> -diagnostik	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik
Katalogové číslo	Numer w katalogu	Artikelnummer	Varenummer	Varenummer
Číslo šarže	Numer serii	Batch nr	Batch nr.	Lot nr.
Spotřebujte do	Użyć przed	Används före	Brukes innen	Anvendes inden
Teplotní omezení	Zakres temperatur	Temperaturbegränsning	Temperaturbegrænsning	Temperaturbegrænsning
Viz návod k použití	Przed użyciem zapoznać się z instrukcją	Se användarmanual	Se bruksanvisning	Se brugsanvisningen
Výrobce	Producent	Tillverkare	Produsent	Producent
Vhodné pro	Wystarczający na	Räcker till	Tilstrekkelig for	Tilstrækkeligt til
Radioindikátor	Znacznik	Tracer	Tracer	Tracer
Antisérum	Przeciwciało	Antiserum	Antiserum	Antiserum
Separální reagenty	Odczynnik separujący	Separationsreagens	Separasjonsreagens	Separationsreagens
Kontrola	Kontrola	Kontrol	Kontrol	Kontrol
Koncentrace kalibrátoru	Stężenie wzorca	Kalibrator koncentration	Kalibrator konsentrasjon	Kalibrator koncentration
Původ: lidský	Substancja pochodzenia ludzkiego	Humant ursprung	Opprinnelse: human	Origin: human
Původ: králíci	Substancja pochodzenia króliczego	Ursprung: kanin	Opprinnelse: kanin	Origin: kanin
Obsahuje azid sodný	Zawiera azidek sodu	Innehåller natriumazid	Inneholder natriumazid	Indeholder natriumazid
Autorizovaný zástupce ve Švýcarsku	Autoryzowany przedstawiciel w Szwajcarii	Auktoriserad representant i Schweiz	Autorisert representant i Sveits	Autoriseret repræsentant i Schweiz

UniQ® PIIINP RIA

Intact N-terminal propeptide of type III procollagen, radioimmunoassay
Cat. No. 68570

Instructions for use	6
Gebrauchsinformation	14
Notice d'utilisation.....	24
Instrucciones de uso.....	34
Istruzioni per l'uso.....	44
Návod k použití.....	54
Instrukcja.....	64
Bruksanvisning, svenska.....	74
Bruksanvisning, norsk.....	82
Brugsvejledning, dansk	90
Literature • Literatur • Bibliographie Bibliografía • Literatura • Litteratur	99

UniQ® PIIINP RIA

Intact N-terminal propeptide of type III collagen, radioimmunoassay

1. INTENDED USE

UniQ PIIINP RIA is a quantitative radioimmunoassay designed for measurement of the concentration of intact aminoterminal propeptide of type III procollagen in human serum. **For *in vitro* diagnostic use.**

2. SUMMARY AND EXPLANATION

Type III collagen is derived from a larger protein – type III procollagen – which has propeptide extensions at both ends of the molecule. Some of the aminoterminal propeptides are set free during the synthesis and deposition of type III collagen and some are retained in the molecules which remain on the surface of the collagen fibrils. This antigen, when found in serum, can thus be derived from the synthesis (including late processing) of new type III collagen or from the degradation of existing type III collagen fibrils.

The further metabolism of PIIINP is not known in detail. Smaller degradation products related to PIIINP are found in serum and excreted in urine. Antigens with a higher molecular weight than the propeptide are also found in serum. Their exact molecular structure is unknown.

Increased concentrations of PIIINP are found in a number of conditions where accumulation and/or degradation of connective tissue takes place. These include fibroproliferative, haematological, endocrinological and malignant diseases. Thus the changes in PIIINP are not specific for a particular disease but reflect the involvement and altered metabolism of type III collagen.

In growth deficient children, the response to growth hormone therapy is reflected in an early increase in serum PIIINP thus providing a means to identify those who respond to the therapy.

Liver fibrosis and cirrhosis of various aetiologies increase serum concentrations of PIIINP. PIIINP provides a non-invasive means of monitoring methotrexate treated psoriatics, thereby reducing the need for liver biopsies. In chronic hepatitis C patients with advanced fibrosis, PIIINP is a useful tool for the follow-up of changes in fibrosis during and after antiviral therapy, and it can provide prognostic information in these patients. In fibrotic conditions of lungs, such as idiopathic lung fibrosis or pulmonary sarcoidosis, serum PIIINP levels may be normal, but a high concentration can be found in bronchoalveolar lavage fluid.

Serum PIIINP is increased in myeloproliferative diseases, particularly during the active phases of myelofibrosis. In polycythaemia vera, a high PIIINP value may predict transformation into myeloid metaplasia.

Increased serum PIIINP levels are found in several malignant diseases, including cancers involving the liver. In breast carcinoma with bone metastases, changes in PIIINP can serve as an indicator of response to therapy. In ovarian carcinoma, changes in serum PIIINP correlate with the development of the disease.

The concentration of PIIINP in serum reflects the healing process after myocardial infarction and predicts left ventricular functional and volume changes. It has also been shown to correlate with scar formation, left ventricular dysfunction and survival rate. The increase in serum PIIINP in the four days following infarction has been shown to be higher in patients with poor outcomes. Furthermore, PIIINP has value as a prognostic predictor of death and hospitalisation.

3. PRINCIPLES OF THE TEST

UniQ PIIINP RIA kit is based on the competitive radioimmunoassay technique. A known amount of labelled PIIINP and an unknown amount of unlabelled PIIINP 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 PIIINP in the sample tube is inversely proportional to the amount of PIIINP in the sample. The concentrations in unknown samples are obtained from a calibration curve.

4. REAGENTS

UniQ® PIIINP RIA, Cat. No. 68570

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	5 weeks
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	Until the expiration date marked on the label	5 weeks
Calibrator ORIG HUM	CAL xxµg/l	7 x 1.5 ml	Until the expiration date marked on the label	5 weeks
Control ORIG HUM	CONTROL	1.5 ml	Until the expiration date marked on the label	5 weeks after reconstitution
Procollagen Separation Reagent	REAG SEPAR	60 ml	Until the expiration date marked on the label	5 weeks
Instructions for use				

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

Reagent preparation

The control is lyophilized. All other reagents are ready to use.

Allow the **control** vial to reach room temperature (18...25°C) before opening. Reconstitute the control by adding 1.5 ml distilled or deionised water to the 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 plumping, 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 ¹²⁵I (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 or hemolyzed 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 PIINP 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 (200 µl, 500 µl and 1.5 ml)
- Test tubes (polypropylene or polystyrene)
- Absorbent paper
- Paraffin film
- Vortex Mixer
- Water bath (capable of maintaining 37 ±1°C)
- Decanting rack
- Centrifuge (capable of at least 2000 g)
- Gamma counter
- Distilled water

Instruments

Any gamma counter capable of measuring ¹²⁵I 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's manufacturer for details of installation, use, maintenance and calibration.

Details of the procedure

1	Bring all reagents and samples to room temperature (18...25°C) at least 30 minutes before use.
2	Label test tubes in duplicate for non-specific binding (NSB), calibrators, control, patient samples and totals.
3	Pipette 200 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 total. Pipette 200 µl of distilled water into the NSB tubes.
6	Mix all tubes using a vortex mixer, cover tubes with paraffin film and incubate for 2 hours at 37 ±1°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 room temperature (18...25°C).
9	Centrifuge all tubes except totals for 15 minutes at 2000 g (minimum) at 4...20°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		200	200	200
Pipette tracer (red)	200	200	200	200
Pipette antiserum (blue)			200	200
Pipette distilled water		200		
Mix		x	x	x
Incubate for 2 hours (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 15 min at 2000 g (4...20°C)		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 PIIIINP RIA assay provides one control material: PIIIINP RIA Control. The expected range of the control is indicated on a separate sheet provided with the assay. It is recommended that each laboratory establish its own acceptable ranges for the control 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 PIIIINP concentrations (µg/l) of the calibrators on the abscissa (X axis).
- **Determine** the PIIIINP 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.

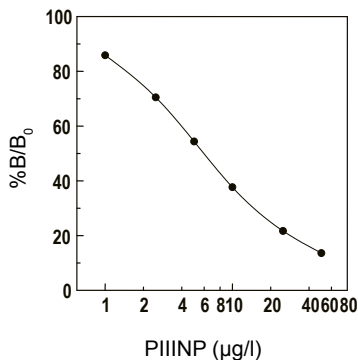


Table 1 Calculation of results using typical data.
This data is for illustration only and must not be used for the calculation of any sample result.

Tube	mean cpm	cpm-NSB	%B/B ₀	PIIINP (µg/l)
Total	48807			
NSB	679			
Cal 0	30976	30297		
Cal 1.0	26705	26026	85.9	
Cal 2.5	22047	21368	70.5	
Cal 5.0	17163	16484	54.4	
Cal 10	12100	11421	37.7	
Cal 25	7241	6562	21.7	
Cal 50	4795	4116	13.6	
Unkn 1	17342	16663	55.0	4.9
Unkn 2	8468	7789	25.7	19.0

10. LIMITATIONS OF PROCEDURE

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.

PIIINP values of apparently healthy adults (19–65 years) were measured with the UniQ PIIINP 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 PIIINP reference limits

	Adults
Number of subjects	232
Mean	3.7 µg/l
Reference interval*	2.3–6.4 µg/l
0.90-confidence intervals for lower reference limit	1.9–2.6 µg/l
for upper reference limit	5.5–6.7 µg/l

*Reference interval = 0.025 & 0.975 fractiles

Reference values for children were derived from a population of healthy children aged 0 months to 19 years (modified from Trivedi P et al. J Pediatr 1989; 114:225-230).

Table 3 Serum PIIINP values for children.

Age group	n (F)	Female ($\mu\text{g/l}$)	n (M)	Male ($\mu\text{g/l}$)
1–3 months	4	53.22 \pm 10.87	5	62.05 \pm 15.59
3–6 months	5	31.25 \pm 6.53	13	33.94 \pm 9.35
6–9 months	7	19.71 \pm 3.53	4	18.14 \pm 3.26
9–12 months	3	19.88 \pm 6.16	4	15.25 \pm 4.65
1–2 years	9	13.45 \pm 2.25	7	11.71 \pm 4.30
2–3 years	10	9.85 \pm 2.65	9	8.47 \pm 2.53
3–10 years *)	63	7.75 \pm 2.17	79	7.75 \pm 2.18
10–11 years	7	8.02 \pm 2.56	12	7.78 \pm 1.61
11–12 years	12	11.23 \pm 2.99	9	7.27 \pm 2.15
12–13 years	5	10.85 \pm 3.77	6	8.96 \pm 2.94
13–14 years	2	5.84 \pm 2.86	4	13.25 \pm 5.58
14–15 years	5	8.09 \pm 1.57	2	12.92 \pm 4.10
15–16 years	2	7.34 \pm 0.11	7	15.42 \pm 4.28
16–17 years	3	3.98 \pm 0.99	–	–
17–18 years	4	4.07 \pm 1.08	5	4.88 \pm 1.06

*) no significant change between 3–10 years.

12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

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

Measurement range

1.0–50 $\mu\text{g/l}$.

Technical detection limit

Approximately 0.4 $\mu\text{g/l}$, defined as twice the standard deviation of the 0-binding value.

Linearity

Linearity was studied by diluting three samples with serum and three samples with 0.9 % NaCl. Mean recovery of the samples was 102 % for 0.9 % NaCl and 100 % for serum.

Recovery

Known amounts of PIIINP were added to four serum sample pools containing 2.9–4.5 $\mu\text{g/l}$ of PIIINP. Recoveries were in the range of 83–100 % with a mean value of 93 %.

Precision and reproducibility

A precision study was performed in line with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines, EP5-A3.

Table 4 Repeatability, between-day and within laboratory precision (20 days)

Sample	Mean PIIINP (µg/l)	N	Repeatability		Between day		Within laboratory (Total)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Serum pool 1	2.81	80	0.11	4.1	0.13	4.7	0.18	6.3
Serum pool 2	6.38	80	0.32	4.9	0.31	4.9	0.44	6.9
Serum pool 3	6.64	80	0.29	4.4	0.22	3.3	0.37	5.5
Serum pool 4	16.4	80	1.44	8.7	0.46	2.8	1.53	9.3

Interfering substances

Serum bilirubin concentration < 400 µmol/l does not interfere. Serum haemoglobin concentration up to 5 g/l does not interfere. Triglycerides up to 30 g/l do not interfere.

Specificity

The intact UniQ PIIINP RIA kit is not sensitive to the smaller degradation products found in blood. It measures propeptide and its higher molecular weight forms. UniQ PIIINP RIA does not cross-react with antigens used in the UniQ PINP RIA kit.

13. TRACEABILITY

The measurand (analyte) in the UniQ PIIINP RIA Calibrators is traceable to the manufacturer's working calibrators, which are prepared from highly purified PIIINP 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® PIIINP RIA

N-terminales Propeptid von Typ III Prokollagen, Radioimmunoassay Kit

1. VERWENDUNGSZWECK

UniQ PIIINP RIA ist ein quantitativer Radioimmunoassay zur Bestimmung der Konzentration des intakten aminoterminalen Propeptids von Typ III Prokollagen in Humanserum. Für *in-vitro* Diagnostik.

2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Typ III Kollagen stammt von einem größeren Protein ab, dem Typ III Prokollagen, das an beiden Enden des Moleküls über Propeptidweiterungen verfügt. Einige der aminoterminalen Propeptide werden während der Synthese und Ablagerung von Typ III Kollagen freigesetzt und andere bleiben in den Molekülen zurück, welche auf der Oberfläche der Kollagenfibrillen verbleiben. Wenn dieses Antigen im Serum zu finden ist, kann es also von der Synthese (einschließlich verspäteter Modifikation) neuen Typ III Kollagens oder vom Abbau vorhandener Typ III Kollagenfibrillen herrühren.

Der weitere Metabolismus von PIIINP ist nicht im Detail bekannt. Kleinere, mit PIIINP verwandte Abbauprodukte sind im Serum zu finden und werden mit dem Urin ausgeschieden. Im Serum finden sich auch Antigene mit höherem Molekulargewicht als das Propeptid. Ihre genaue Molekülstruktur ist nicht bekannt.

Zu einer erhöhten PIIINP-Konzentration kommt es bei Zuständen, bei denen eine Anhäufung und/oder ein Abbau von Bindegewebe stattfindet, z. B. bei fibroproliferativen, hämatologischen, endokrinologischen und malignen Erkrankungen. Veränderungen des PIIINP-Spiegels sind daher nicht für eine bestimmte Krankheit spezifisch sondern spiegeln die Beteiligung und einen veränderten Metabolismus von Typ III Kollagen wider.

Bei Kindern mit vermindertem Wachstum zeigt sich das Ansprechen auf eine Wachstumshormontherapie an einem frühzeitigen Anstieg des PIIINP im Serum und ermöglicht somit die Identifizierung derjenigen Kinder, die auf die Therapie ansprechen.

Leberfibrose und -zirrhose verschiedener Ätiologien erhöht die Serumkonzentrationen von PIIINP. PIIINP stellt eine Möglichkeit zur nicht-invasiven Überwachung bei mit Methotrexat behandelter Psoriasis dar und reduziert somit die Notwendigkeit von Leberbiopsien. Bei Patienten mit chronischer Hepatitis C und fortgeschrittener Fibrose ermöglicht PIIINP die Verfolgung von Veränderungen der Fibrose während und nach einer antiviralen Therapie und kann Prognosen für diese Patienten bereitstellen. Bei fibrotischen Erkrankungen der Lunge, wie z. B. idiopathischer Lungenfibrose oder Lungensarkoidose, sind die PIIINP-Werte im Serum möglicherweise normal, in der bronchoalveolären Spülflüssigkeit kann jedoch eine hohe Konzentration vorliegen.

Bei myeloproliferativen Erkrankungen ist das PIIINP im Serum erhöht, insbesondere während der aktiven Phasen der Myelofibrose. Bei Polycythaemia vera kann ein hoher PIIINP-Wert ein Vorbote für die Transformation in eine myeloische Metaplasie sein.

Erhöhte PIIINP-Werte im Serum sind bei verschiedenen malignen Erkrankungen anzutreffen, z. B. bei Krebsarten, welche die Leber einbeziehen. Bei Brustkarzinomen mit Knochenmetastasen können Veränderungen beim PIIINP-Wert als Indikator für ein Ansprechen auf die Therapie dienen. Bei Ovarialkarzinomen kommt es bei der Entstehung der Krankheit zu Veränderungen des PIIINP-Wertes im Serum.

Die Konzentration des PIIINP im Serum spiegelt den Heilungsprozess nach einem Herzinfarkt wider und ermöglicht eine Prognose bezüglich Veränderungen bei Funktion und Volumen des linken Ventrikels. Ein Zusammenhang mit Narbenbildung, linksventrikulärer Dysfunktion und Überlebensrate wurde ebenfalls nachgewiesen. Bei Patienten mit schlechterem Ergebnis wurde in den ersten vier Tagen nach dem Infarkt ein höherer Anstieg des PIIINP im Serum festgestellt. Darüber hinaus eignet sich PIIINP zur Prognostizierung von Todesfällen und Krankenhauseinweisungen.

3. TESTPRINZIP

UniQ PIIINP RIA ist ein kompetitiver Radioimmunoassay. Eine bekannte Menge an radioaktiv markiertem PIIINP konkurriert mit einer unbekanntem Menge an nicht-markiertem PIIINP 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 PIIINP im Röhrchen umgekehrt proportional zur Menge an PIIINP in der Probe. Die PIIINP-Konzentration in der Probe wird anhand einer Kalibrationskurve ermittelt.

4. REAGENZIEN

UniQ® PIIINP RIA, Kat. Nr. 68570

Name und Origin des Kit-Komponents	Symbol	Σ 100	Stabilität bei 2...8°C	
			Ungeöffnet	Geöffnet
Tracer	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktivität < 200 kBq.	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	5 Wochen
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	5 Wochen
Kalibrator ORIG HUM	CAL xx µg/l	7 x 1,5 ml	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	5 Wochen
Kontrolle ORIG HUM	CONTROL	1,5 ml	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	5 Wochen nach Rekonstitution
Prokollagen Trennreagenz	REAG SEPAR	60 ml	Bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum	5 Wochen
Gebrauchsinformation				

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

Aufbereitung der Reagenzien

Die Kontrolle ist lyophilisiert. Alle andere Reagenzien sind gebrauchsfertig. Kontrollfläschchen vor dem Öffnen auf Raumtemperatur (18...25°C) bringen. Inhalt mit 1,5 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 oder hämolytische 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 PIIINP-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 (200 µl, 500 µl Und 1,5 ml)
- Reagenzgläser
- Saugfähiges Papier
- Parafilm®
- Vortex Mixer
- Wasserbad (Für Eine Konstante Temperatur Von 37 ±1°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 200 µl in die entsprechenden Röhrchen pipettieren . Eine beliebige Patientenprobe in die NSB-Röhrchen pipettieren.
4	Jedem Röhrchen 200 µl PIIINP-Tracer (rot) hinzufügen .
5	Jedem Röhrchen, außer den Röhrchen für NSB und Totalaktivität, 200 µl Antiserum (blau) hinzufügen . In jedes NSB-Röhrchen 200 µl Wasser geben.
6	Jedes Röhrchen kurz vortexen , mit Parafilm® verschließen und für 2 Std. in einem Wasserbad bei 37 ±1°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 vortexen und für 30 Minuten bei Raumtemperatur (18...25°C) inkubieren .
9	Mit Ausnahme der Röhrchen für die Totalaktivität jedes Röhrchen für 15 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)

	Total	NSB	Kalibrator	Kontrolle und Unbekannt
Proben pipettieren		200	200	200
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 inkubieren		x	x	x
Zentrifugieren: 15 Min. bei 2000xg		x	x	x
Dekantieren		x	x	x
1 Min. oder bis 10 000 cpm zählen	x	x	x	x

8. QUALITÄTSKONTROLLE

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 PIIINP RIA enthält eine Kontrolle: PIIINP RIA Control. Die erwarteten Bereiche der Kontrolle ist 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 Kitchargen 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/B₀ 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, B₀ die gebundene Radioaktivität des Nullkalibrators und NSB die unspezifisch gebundene Radioaktivität darstellen.

- Auf semilogarithmischem Papier eine Standardkurve zeichnen, indem die %B/B₀ –Werte der einzelnen Kalibratoren auf der Ordinate (y-Achse) gegen die entsprechenden PIIINP-Konzentrationen (µg/l) der Kalibratoren auf der Abszisse (x-Achse) aufgetragen werden.
- Die PIIINP-Konzentrationen der Proben durch Interpolation ihrer %B/B₀-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.

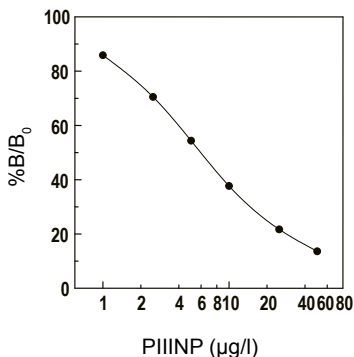


Tabelle 1 Berechnungsbeispiel anhand typischer Daten.

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

Röhrchen	MW cpm	cpm-NSB	%B/B ₀	PIIINP (µg/l)
Total	48807			
NSB	679			
Kal 0	30976	30297		
Kal 1.0	26705	26026	85,9	
Kal 2.5	22047	21368	70,5	
Kal 5.0	17163	16484	54,4	
Kal 10	12100	11421	37,7	
Kal 25	7241	6562	21,7	
Kal 50	4795	4116	13,6	
Probe 1	17342	16663	55,0	4,9
Probe 2	8468	7789	25,7	19,0

10. GRENZEN DES VERFAHRENS

Für das weitere diagnostische und therapeutische Vorgehen müssen die PIIINP-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 PIIINP-Spiegel im Serum wurden bei offensichtlich gesunden Erwachsenen (19–65 Jahre) mit dem UniQ PIIINP 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 PIINP-Normbereiche im Serum

	Erwachsene
Zahl der Probanden	232
Mittelwert	3,7 µg/l
Normbereich*	2,3–6,4 µg/l
0,90-Vertrauensbereiche für unteren Grenzwert	1,9–2,6 µg/l
für oberen Grenzwert	5,5–6,7 µg/l

* Normbereich = 0,025 & 0,975 Perzentile

Die Normbereiche für Kinder wurden anhand eines gesunden Kollektivs (0–19 Jahre) erstellt. (Modifiziert nach Trivedi P et al. J Pediatr 1989; 114:225–230).

Tabelle 3 PIINP-Normbereiche im Serum für Kinder

Altersklasse	n (M)	Mädchen (µg/l)	n (J)	Jungen (µg/l)
1–3 Monate	4	53,22 ± 10,87	5	62,05 ± 15,59
3–6 Monate	5	31,25 ± 6,53	13	33,94 ± 9,35
6–9 Monate	7	19,71 ± 3,53	4	18,14 ± 3,26
9–12 Monate	3	19,88 ± 6,16	4	15,25 ± 4,65
1–2 Jahre	9	13,45 ± 2,25	7	11,71 ± 4,30
2–3 Jahre	10	9,85 ± 2,65	9	8,47 ± 2,53
3–10 Jahre *)	63	7,75 ± 2,17	79	7,75 ± 2,18
10–11 Jahre	7	8,02 ± 2,56	12	7,78 ± 1,61
11–12 Jahre	12	11,23 ± 2,99	9	7,27 ± 2,15
12–13 Jahre	5	10,85 – 3,77	6	8,96 ± 2,94
13–14 Jahre	2	5,84 ± 2,86	4	13,25 ± 5,58
14–15 Jahre	5	8,09 ± 1,57	2	12,92 ± 4,10
15–16 Jahre	2	7,34 ± 0,11	7	15,42 ± 4,28
16–17 Jahre	3	3,98 ± 0,99	–	–
17–18 Jahre	4	4,07 ± 1,08	5	4,88 ± 1,06

*) keine signifikante Veränderung zwischen 3 und 10 Jahren.

12. TESTSPEZIFIKATION

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

Messbereich

1,0–50 µg/l.

Technische Nachweisgrenze

Ca. 0,4 µg/l, definiert als die zweifache Standardabweichung vom Null-Bindungswert.

Linearität

Die Linearität wurde untersucht, indem drei Proben mit Serum und drei Proben mit 0,9% NaCl verdünnt wurden. Die mittlere Wiederfindung der Proben war 102% für 0,9% NaCl und 100% für Serum.

Wiederfindung

Bekannte Mengen PIIINP wurden zu vier Serumprobenpools mit 2,9–4,5 µg / l PIIINP gegeben. Die Wiederfindungen lagen im Bereich von 83–100% mit einem Mittelwert von 93%.

Validität

Der Hersteller hat Validitätsstudien gemäß der Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Leitlinie EP5-A3 durchgeführt.

Tabelle 4 Repeatability, between-day and within laboratory precision (20 Tage)

Probe	Mittelwert PIIINP (µg/l)	N	Repeatability		Between day		Within laboratory (Total)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Serum pool 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Serum pool 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Serum pool 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Serum pool 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

Interferenz

Serum-Bilirubin (< 400 µmol/l) und Serum-Hämoglobin (bis 5 g/l) haben keinen Einfluss auf die Messwerte. Triglyceride < 30 g/l haben keinen Einfluss. Lipämische Proben sind zu vermeiden.

Spezifität

Der UniQ PIIINP RIA misst das Propeptid und Derivate mit einem höheren Molekulargewicht. Er reagiert nicht mit den im Blut vorhandenen, kleineren Abbauprodukten des Propeptids. Der UniQ PIIINP RIA zeigt keine Kreuzreaktivität mit Antigenen aus den UniQ PINP RIA Kit.

13. NACHWEISBARKEIT

Die Messwerte (Analyt), der im UniQ PIIINP RIA eingesetzten Kalibratoren, beziehen sich auf die Arbeitskalibratoren des Herstellers. Diese wurden aus hoch gereinigtem PIIINP 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® PIIINP RIA

Intact N-terminal propeptide of type III collagen, radioimmunoassay kit

1. BUT DU DOSAGE

La méthode UniQ PIIINP RIA est un dosage radio-immunologique destiné à la mesure quantitative du propeptide aminoterminal intact du procollagène de type III dans le sérum humain. **Pour le diagnostic *in vitro*.**

2. RESUME ET EXPLICATION

Le collagène de type III est dérivé d'une protéine plus importante, le procollagène de type III, qui présente des propeptides d'extension aux deux extrémités de la molécule. Certains propeptides aminotermiaux sont libérés au cours de la synthèse et du dépôt du collagène de type III et d'autres sont retenus dans les molécules qui restent à la surface des fibrilles de collagène. Quand il est présent dans le sérum, cet antigène peut donc être dérivé de la synthèse (mais aussi du traitement ultérieur) du nouveau collagène de type III ou de la dégradation des fibrilles de collagène de type III existantes.

Les détails du métabolisme postérieur des PIIINP ne sont pas connus. Des produits plus petits issus de la dégradation et associés aux PIIINP sont présents dans le sérum et excrétés dans les urines. Des antigènes possédant un poids moléculaire supérieur à celui des propeptides sont également présents dans le sérum. Leur structure moléculaire exacte est inconnue.

Des concentrations accrues de PIIINP sont présentes dans un certain nombre de conditions où l'on observe une accumulation et/ou une dégradation du tissu connectif comme, par ex., dans le cas de pathologies générant une fibroprolifération, des maladies hématologiques, endocrinologiques et malignes. Les modifications des PIIINP ne sont pas spécifiques à une pathologie mais sont caractéristiques de l'implication du collagène de type III et de l'altération de son métabolisme.

Chez les enfants présentant un retard de croissance, la réponse au traitement par hormones de croissance s'observe dans l'augmentation précoce des PIIINP sériques, ce qui permet d'identifier les patients répondant au traitement.

La fibrose hépatique et les cirrhoses de diverses étiologies provoquent une augmentation des concentrations sériques de PIIINP. Les PIIINP permettent de surveiller, par voie non invasive, les cas de psoriasis traités par méthotrexate, diminuant ainsi le recours aux biopsies du foie. Chez les patients souffrant d'hépatite C chronique avec fibrose avancée, les PIIINP constituent un outil utile de suivi des variations de la fibrose pendant et après le traitement antiviral et peuvent fournir des informations pronostiques chez ces patients. En cas de fibrose pulmonaire, comme la fibrose pulmonaire idiopathique ou la sarcoïdose pulmonaire, même si les taux sériques de PIIINP peuvent être normaux, une concentration élevée peut être rencontrée dans le liquide broncho-alvéolaire. Le PIIINP sérique augmente dans les cas de syndrome myéloprolifératif, surtout au cours des phases actives de la myélofibrose. En cas de polyglobulie essentielle, une valeur élevée de PIIINP peut prédire une transformation en métaplasie myéloïde.

L'augmentation des niveaux sériques de PIIINP se produit dans différentes pathologies malignes, telles que les cancers touchant le foie. Dans les cas de carcinome mammaire avec métastases osseuses, les variations des PIIINP peuvent servir d'indicateur de réponse au traitement. Pour les carcinomes ovariens, ces variations sont corrélées à l'évolution de la maladie.

La concentration des PIIINP dans le sérum reflète le processus de guérison à la suite d'un infarctus du myocarde et permet de prédire les variations de fonction et de volume du ventricule gauche. Leur corrélation avec la formation des cicatrices, les troubles du ventricule gauche et le taux de survie a également été démontrée. Dans les quatre jours suivant un infarctus, on a observé une augmentation des PIIINP sériques supérieure chez les patients dont l'évolution est défavorable. Par ailleurs, les PIIINP permettent de prédire correctement les décès et hospitalisations.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

La méthode UniQ PIIINP RIA utilise une technique radio-immunologique par compétition. Une quantité connue de PIIINP marqué et une quantité inconnue de PIIINP non marqué de 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 PIIINP marqué dans le tube est inversement proportionnelle à la quantité de PIIINP de l'échantillon. Les concentrations des échantillons inconnus sont obtenues à partir de la courbe d'étalonnage.

4. REACTIFS

UniQ® PIIINP RIA, Cat. No. 68570

Composant Nom et origine	Symbole	Σ 100	Stabilité à 2...8°C	
			Avant ouverture	Ouvert
Traceur	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioactivité < 200 kBq	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	5 semaines
Antisérum ORIG RAB	Ab	22 ml	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	5 semaines
Etalons ORIG HUM	CAL xx µg/l	7 x 1,5 ml	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	5 semaines
Contrôle ORIG HUM	CONTROL	1,5 ml	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	5 semaines après reconstitution
Réactif de séparation du Procollagène	REAG SEPAR	60 ml	Jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette	5 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

Le contrôle est lyophilisé. Tous les autres réactifs sont prêts à l'emploi.

Laisser revenir le contrôle à la température ambiante (18...25°C) avant ouverture. Reconstituer le contrôle en ajoutant 1,5 ml d'eau distillée ou désionisée. 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 anticorps 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 ou hémolysés 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 entre 2...8°C. Pour de plus longues périodes, congeler à une température inférieure ou égale à -20°C. Éviter les congélations et décongélations répétées.

Les échantillons sériques contenant des concentrations élevées de PIIINP peuvent être dilués avec du NaCl 0,9 %.

7. REALISATION DU DOSAGE

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

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes (200 µl, 500 µl et 1,5 ml)
- Tubes de dosage
- Papier absorbant
- Parafilm
- Mélangeur Vortex
- Bain marie (à 37 ±1°C)
- Portoir de Décantation
- Centrifugeuse (Pour 2000 g Min.)
- Compteur Gamma
- Eau Distillée

Appareils

Tous les compteurs gamma capables de mesurer la radioactivité de l'iode¹²⁵ 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 200 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 (18...25°C).
9	Centrifuger tous les tubes sauf ceux pour l'activité totale pendant 15 minutes à 2000g minimum et à une température comprise entre 4 et 20°C (4°C est recommandé).
10	Décanté et taper le bord de chaque tube, sauf les tubes d'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 pour éviter de constater une mauvaise réplification et des valeurs erronées.
11	Compter chaque tube sur 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 "Calcul des résultats" du présent document.

Réalisation du dosage – résumé

(tous les volumes sont donnés en µl)

	Total	NSB	Etalon	Contrôle et échantillon
Ajouter échantillon		200	200	200
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		x	x	x
Centrifuger 15 min à 2000g		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 adoptent 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 PIIIINP RIA fournit un contrôle : PIIIINP Control. Le gamme de référence de contrôle est indiquée sur une feuille à part, fournie à l'intérieur du kit. Il est également recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres intervalles acceptables pour le contrôle utilisé dans le laboratoire. La valeur moyenne du contrôle devrait se situer dans l'intervalle fixé par Aidian. Il est conseillé d'utiliser au moins 2 lots de trousse 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** la moyenne des coups pour tous les étalons, échantillons et contrôles:

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

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/B_0 en ordonnée (axe-y) et les concentrations en PIIINP ($\mu\text{g/l}$) des étalons en abscisse (axe-x).
- **Déterminer** les concentrations en PIIINP des échantillons inconnus à partir de la courbe d'étalonnage.
- **Tout échantillon affiché en-dessous de l'étalon minimum doit être considéré comme indétectable.**
- **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.

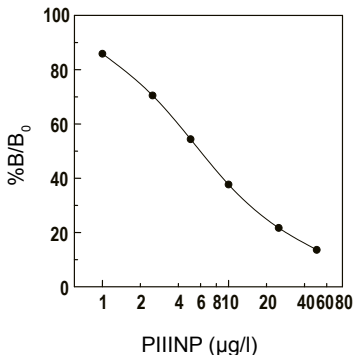


Tableau 1 Calcul des résultats avec des données type.
Ces données ne doivent être utilisées pour un calcul de résultats d'échantillon.

Tube	moyenne cpm	cpm-LNS	%B/B ₀	PIIINP ($\mu\text{g/l}$)
Total	48807			
NSB	679			
Etal. 0	30976	30297		
Etal. 1.0	26705	26026	85,9	
Etal. 2.5	22047	21368	70,5	
Etal. 5.0	17163	16484	54,4	
Etal. 10	12100	11421	37,7	
Etal. 25	7241	6562	21,7	
Etal. 50	4795	4116	13,6	
Inconnu 1	17342	16663	55,0	4,9
Inconnu 2	8468	7789	25,7	19,0

10. LIMITES DE LA METHODE

La détermination de la concentration de PIIINP 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 PIIINP a été mesurée avec la trousse UniQ PIIINP RIA chez des adultes apparemment en bonne santé (19–65 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 PIIINP sérique

	Adultes
Nombres de sujets	232
Moyenne (µg/l)	3,7 µg/l
Intervalle de référence* (µg/l)	2,3–6,4 µg/l
Intervalle de confiance à 90%	
- pour la limite de référence inférieure	1,9–2,6 µg/l
- pour la limite de référence supérieure	5,5–6,7 µg/l

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

Les valeurs de référence pour les enfants ont été établies d'après une population d'enfants en bonne santé, âgés de 0 mois à 19 ans (modifiées de Trivedi P et al. J Pediatr 1989 ; 114:225–230).

Tableau 3 Valeurs de référence du PIIINP sérique pour les enfants

Groupe d'âge	n (F)	Fille (µg/l)	n (M)	Garçon (µg/l)
1–3 mois	4	53,22 ± 10,87	5	62,05 ± 15,59
3–6 mois	5	31,25 ± 6,53	13	33,94 ± 9,35
6–9 mois	7	19,71 ± 3,53	4	18,14 ± 3,26
9–12 mois	3	19,88 ± 6,16	4	15,25 ± 4,65
1–2 ans	9	13,45 ± 2,25	7	11,71 ± 4,30
2–3 ans	10	9,85 ± 2,65	9	8,47 ± 2,53
3–10 ans *)	63	7,75 ± 2,17	79	7,75 ± 2,18
10–11 ans	7	8,02 ± 2,56	12	7,78 ± 1,61
11–12 ans	12	11,23 ± 2,99	9	7,27 ± 2,15
12–13 ans	5	10,85 – 3,77	6	8,96 ± 2,94
13–14 ans	2	5,84 ± 2,86	4	13,25 ± 5,58
14–15 ans	5	8,09 ± 1,57	2	12,92 ± 4,10
15–16 ans	2	7,34 ± 0,11	7	15,42 ± 4,28
16–17 ans	3	3,98 ± 0,99	–	–
17–18 ans	4	4,07 ± 1,08	5	4,88 ± 1,06

*) Pas de changement significatif entre 3 et 10 ans.

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 technique

Environ 0,4 µg/l, définie comme étant 2 fois l'écart-type de la liaison de l'étalon 0.

Linéarité

La linéarité a été évaluée en diluant trois échantillons avec du sérum et trois échantillons avec 0,9 % de NaCl. La récupération moyenne des échantillons était de 102 % pour NaCl à 0,9 % et de 100 % pour le sérum.

Récupération

Des quantités connues de PIIINP ont été ajoutées à quatre d'échantillons de sérum pools contenant 2,9–4,5 µg/l de PIIINP. Les récupérations trouvées sont de 83–100 % avec une valeur moyenne de 93 %.

Précision

La précision intra-essai et inter-essai a été déterminée sur des échantillons sériques contenant différentes concentrations de PIIINP.

Tableau 4 Reproductibilité, between-day et within laboratory précision (20 jours)

Enchantillon	Moyenne PIIINP (µg/l)	N	Répétabilité		Intra-essai		Intra-laboratoire (Total)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Sérum pool 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Sérum pool 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Sérum pool 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Sérum pool 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

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 inférieure ou égale à 30 g/l n'interfère pas non plus.

Spécificité analytique

La trousse UniQ PIIINP RIA n'est pas sensible aux produits de dégradation de faible poids moléculaire qui se trouvent dans le sang. Elle permet de mesurer le propeptide et ses différentes formes de poids moléculaire plus élevé. La trousse UniQ PIIINP RIA ne présente pas de réactions croisées avec les antigènes utilisés dans les trousse UniQ PINP RIA.

13. TRACABILITE

Le mesurand (analyte) des étalons du kit UniQ PIIINP RIA est traçable aux étalons du fabricant qui sont préparés à partir d'un PIIINP 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® PIIINP RIA

Kit para la medición del propéptido intacto N-terminal del procolágeno tipo III por radioinmunoensayo

1. APLICACIÓN

UniQ PIIINP RIA es un radioinmunoensayo diseñado para la medición de la concentración del telopéptido carboxiterminal de enlace cruzado del colágeno tipo 1 en suero humano. **Para uso en diagnóstico *in Vitro*.**

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El colágeno de tipo III se deriva de una proteína más grande, el procolágeno de tipo III, que tiene extensiones de propéptido en los dos extremos de la molécula. Algunos de los propéptidos aminoterminales se liberan durante la síntesis y deposición del colágeno de tipo III, y otros quedan retenidos en las moléculas que se quedan en la superficie de las fibras de colágeno. Por tanto, cuando se encuentra en el suero, este antígeno se puede obtener de la síntesis (incluido el último procesado) del nuevo colágeno de tipo III, o bien de la degradación de las fibras de colágeno de tipo III existentes.

No se conoce con detalle el metabolismo posterior de PIIINP. Productos con degradación menor relacionados con PIIINP se encuentran en el suero y se excretan por la orina. También se encuentran en el suero antígenos con un peso molecular mayor que el propéptido. Se desconoce su estructura molecular exacta.

En algunas condiciones donde se produce acumulación y/o degradación del tejido conjuntivo, por ejemplo en enfermedades malignas fibroproliferativas, hematológicas y endocrinológicas, se ha documentado incremento en las concentraciones de PIIINP. Por tanto, los cambios en PIIINP no son específicos de una enfermedad en particular, sino que reflejan la participación y el metabolismo alterado del colágeno de tipo III.

En niños con déficit en el crecimiento, la respuesta a la terapia de la hormona del crecimiento se refleja en un aumento temprano en el suero PIIINP lo que nos proporciona un medio para identificar a los que responden a la terapia.

La fibrosis hepática y la cirrosis de varias etiologías aumentan las concentraciones en suero de PIIINP. PIIINP proporciona un medio de monitorización no invasivo para enfermos de psoriasis tratados con metotrexato, reduciendo en consecuencia la necesidad de biopsias hepáticas. En pacientes con hepatitis C crónica y fibrosis avanzada, el PIIINP es una herramienta útil para el seguimiento de los cambios en la fibrosis durante y después de la terapia antiviral y puede proporcionar información diagnóstica para estos pacientes. En situaciones fibróticas de los pulmones, como la fibrosis idiopática del pulmón o la sarcoidosis pulmonar, los niveles en suero de PIIINP pueden ser normales, pero se pueden encontrar concentraciones altas en fluidos de lavado broncoalveolar.

En enfermedades mieloproliferativas aumenta el suero en PIIINP, sobre todo en las fases activas de mielofibrosis. En casos de policitemia vera, un valor alto de PIIINP puede rededir la transformación en metaplasia mieloide.

En diversas enfermedades malignas, como el cáncer de hígado, se encuentran niveles aumentados en suero de PIIINP. En el carcinoma de pecho con metástasis de hueso, los cambios en PIIINP pueden servir como un indicador de la respuesta a la terapia. En el carcinoma de ovarios los cambios en suero de PIIINP se corresponden con el desarrollo de la enfermedad.

La concentración de PIIINP en suero refleja el proceso curativo después de un infarto de miocardio y predice los cambios en el volumen y en la funcionalidad del ventrículo izquierdo. También se ha demostrado que tiene que ver con la cicatrización, con la disfunción del ventrículo izquierdo y con la tasa de supervivencia. Se ha demostrado que el aumento en suero de PIIINP en los cuatro días posteriores al infarto es mayor en pacientes con pobres resultados. Además, el PIIINP tiene un valor como predictor de pronóstico de muerte y de hospitalización.

3. PRINCIPIOS DE LA PRUEBA

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

4. REACTIVOS

UniQ® PIIINP RIA, Cat. No. 68570

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	5 semanas
Antisuero ORIG RAB	Ab	22 ml	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	5 semanas
Calibrador ORIG HUM	CAL xxµg/l	7 x 1,5 ml	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	5 semanas
Control ORIG HUM	CONTROL #	1,5 ml	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	5 semanas después de la reconstitución
Reactivo de separación del procolágeno	REAG SEPAR	60 ml	Hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta	5 semanas
Instrucciones de uso				

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

Preparación del reactivo

El control está liofilizado. Todos los demás reactivos están listos para usar.

Esperar a que el vial de control se encuentre a temperatura ambiente (18...25°C) antes de abrirlo. Reconstituir el control añadiendo 1,5 ml de agua destilada o desionizada al vial. Tapar y mezclar a fondo arremolinando o invirtiendo el vial suavemente para evitar que se produzca espuma. Dejarlo reposar 30 minutos antes de utilizarlo.

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 ¹²⁵I (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 radioactivos 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 o hemolizadas.

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 PIINP 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 (200 µl, 500 µl y 1,5 ml) | ● Baño de agua (capaz de mantener 37 ±1°C) |
| ● Tubos de prueba | ● Gradilla |
| ● Papel absorbente | ● Centrifuga (capaz de por lo menos 2000 g) |
| ● Película de parafina | ● Contador gamma |
| ● Agitador | ● 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 contador, consultar el manual de instrucciones suministrado por el fabricante el instrumento.

Detalles del procedimiento

1	Esperar a que todos los reactivos y las muestras se pongan a temperatura ambiente (18...25°C) por lo menos 30 minutos antes de usarlos.
2	Etiquetar los tubos por duplicado para el NSB (fijación no-específica), los calibradores, el control, las muestras del paciente y los totales.
3	Pipetear 200 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 ±1°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 (18...25°C).
9	Centrifugar todos los tubos exceptuando los totales durante 15 minutos a 2000xg (como mínimo) a 4...20°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 “Cálculo de los resultados”

Procedimiento de la prueba – resumen

(todos los volúmenes se facilitan en µl)

	Total	NSB	Calibrador	Control y Muestra
Pipetear la muestra		200	200	200
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

	Total	NSB	Calibrador	Control y Muestra
Incubar 30 min a TA		x	x	x
Centrifugar 15 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 el suero de control tanto en la fracción superior como en la inferior del rango de referencia para monitorizar el rendimiento del procedimiento. El ensayo RIA PIIIINP UniQ proporciona un material de control: el control RIA PIIIINP. El rango esperado del control se indica 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 Aidian. 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, debe realizarse el control 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:

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

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 PIIIINP (µg/l) de los calibradores.
 - **Determinar** las concentraciones de PIIIINP 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.

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

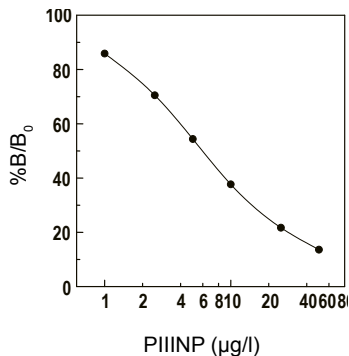


Tabla 1 Cálculo de resultados utilizando datos típicos. Esta curva sirve solamente como ilustración y no debe utilizarse para el cálculo de ningún resultado de la muestra.

Tubo	Media cpm	cpm-NSB	%B/B₀	PIIINP (µg/l)
Total	48807			
NSB	679			
Cal 0	30976	30297		
Cal 1.0	26705	26026	85,9	
Cal 2.5	22047	21368	70,5	
Cal 5.0	17163	16484	54,4	
Cal 10	12100	11421	37,7	
Cal 25	7241	6562	21,7	
Cal 50	4795	4116	13,6	
Desc 1	17342	16663	55,0	4,9
Desc 2	8468	7789	25,7	19,0

10. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para tomar decisiones diagnósticas y terapéuticas, los resultados sobre los niveles de PIIINP 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 PIIINP de sujetos aparentemente sanos (19–65 años) utilizando el Kit UniQ PIIINP 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 PIIINP sérico

	Adultos
Cantidad de sujetos	232
Media	3,7 µg/l
Intervalo de referencia*	2,3–6,4 µg/l
0,90-intervalos de confianza	
para el límite de referencia inferior	1,9–2,6 µg/l
para el límite de referencia superior	5,5–6,7 µg/l

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

Los valores de referencia para los niños se obtuvieron a partir de una población de niños sanos de edades comprendidas entre los 0 meses y los 19 años (modificado a partir de Trivedi P et al. J Pediatr. 1989; 114:225-230).

Tabla 3 Valores de referencia del PIIINP sérico para niños.

Rango de edades	n (H)	Hembra ($\mu\text{g/l}$)	n (M)	Macho ($\mu\text{g/l}$)
1–3 meses	4	53,22 \pm 10,87	5	62,05 \pm 15,59
3–6 meses	5	31,25 \pm 6,53	13	33,94 \pm 9,35
6–9 meses	7	19,71 \pm 3,53	4	18,14 \pm 3,26
9–12 meses	3	19,88 \pm 6,16	4	15,25 \pm 4,65
1–2 años	9	13,45 \pm 2,25	7	11,71 \pm 4,30
2–3 años	10	9,85 \pm 2,65	9	8,47 \pm 2,53
3–10 años *)	63	7,75 \pm 2,17	79	7,75 \pm 2,18
10–11 años	7	8,02 \pm 2,56	12	7,78 \pm 1,61
11–12 años	12	11,23 \pm 2,99	9	7,27 \pm 2,15
12–13 años	5	10,85 \pm 3,77	6	8,96 \pm 2,94
13–14 años	2	5,84 \pm 2,86	4	13,25 \pm 5,58
14–15 años	5	8,09 \pm 1,57	2	12,92 \pm 4,10
15–16 años	2	7,34 \pm 0,11	7	15,42 \pm 4,28
16–17 años	3	3,98 \pm 0,99	–	–
17–18 años	4	4,07 \pm 1,08	5	4,88 \pm 1,06

*) sin cambio significativo entre 3-10 años.

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 $\mu\text{g/l}$.

Límite de detección técnica

Aproximadamente 0,4 $\mu\text{g/l}$, definida como el doble de la desviación estándar con respeto al valor fijado como cero.

Linealidad

Se estudió la linealidad diluyendo tres muestras con suero y tres muestras con NaCl al 0,9%. La recuperación media de las muestras fue del 102% para el 0,9% de NaCl y del 100% para el suero.

Recuperación

Se agregaron cantidades conocidas de PIIINP a cuatro agrupaciones de muestras de suero que contenían 2,9–4,5 μl / l de PIIINP. Las recuperaciones estuvieron en el rango de 83–100% con un valor medio de 93%.

Precisión y reproducibilidad

Se realizó un estudio de precisión siguiendo las pautas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), EP5-A3.

Tabla 4 Repetibilidad, entre días y con precisión de laboratorio (20 días)

Muestra	Promedio PIIINP (µg/l)	N	Repetibilidad		Entre días		Precisión de laboratorio (Total)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Agrupaciones de suero 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Agrupaciones de suero 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Agrupaciones de suero 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Agrupaciones de suero 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

Sustancias interferidoras

Las concentraciones de bilirubina en suero < 400 µmol/l no interfieren. Las concentraciones de hemoglobina en suero hasta 5 g/l no interfieren. Los triglicéridos hasta < 30 g/l tampoco interfieren.

Especificidad

El ensayo del UniQ PIIINP intacto RIA no es sensible a los productos de degradación de menor tamaño presentes en la sangre. Mide el propéptido y sus formas de mayor peso molecular. UniQ PIIINP RIA no presenta reactividad cruzada con los antígenos utilizados en los kits del UniQ PINP RIA.

13. TRAZABILIDAD

El antígeno en los calibradores RIA PIINP UniQ se puede trazar en conformidad con los calibradores funcionales del fabricante, que están elaborados con PIINP 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® PIIINP RIA

Propeptide N Terminale del Collagene di tipo III, Kit Radioimmunologico

1. USO DEL KIT

Il kit UniQ PIIINP RIA è un test radioimmunologico per la determinazione quantitativa del Propeptide N Terminale del Collagene di tipo III nel siero umano. **Per uso diagnostico *in vitro*.**

2. SOMMARIO E SPIEGAZIONI

Il collagene di Tipo III deriva da una proteina a maggior peso molecolare, il Procollagene di Tipo III, che possiede estensioni propeptidiche ad entrambe l'estremità. Alcuni propeptidi aminoterminali sono rilasciati in forma libera durante la sintesi e la deposizione del Collagene di Tipo III, mentre altri sono incorporati nelle molecole che rimangono sulla superficie delle fibrille di collagene. Questo antigene, determinato nel siero, può derivare sia dalla sintesi di nuovo Collagene di Tipo III, che dalla degradazione del Collagene di Tipo III presente nelle fibrille.

Il destino metabolico del PIIINP non è conosciuto in dettaglio. Piccoli prodotti di degradazione del PIIINP sono state trovati nel siero nelle urine. Nel siero si trovano antigeni a peso molecolare più elevato rispetto al pro peptide; la loro struttura molecolare non è al momento conosciuta.

Concentrazioni aumentate di PIIINP sono state trovate in diverse condizioni in presenza di accumulazione o degradazione di tessuto connettivo, come, ad esempio, nelle malattie fibroproliferative, ematologiche, endocrinologiche o tumorali. Le variazioni dei livelli di PIIINP non sono quindi specifiche per una particolare malattia, ma riflettono l'interessamento del collagene di tipo III e un suo metabolismo alterato.

Nei bambini con deficit di crescita, la risposta al trattamento con ormone della crescita viene evidenziata precocemente dall'aumento dei livelli sierici di PIIINP; questo permette di identificare i soggetti che rispondono alla terapia.

Nella fibrosi e nella cirrosi epatica di cause diverse, si verifica un aumento dei livelli di PIIINP. La determinazione del PIIINP si è rivelata un efficace metodo non invasivo per il monitoraggio dei soggetti con psoriasi trattati con metotrexato, rendendo non necessaria l'esecuzione della biopsia epatica.

Nei soggetti con epatite cronica di tipo C con fibrosi avanzata, la determinazione del PIIINP è utile per verificare le modifiche della fibrosi durante e dopo trattamento antivirale e può fornire indicazioni prognostiche per questi soggetti. Nelle malattie fibrotiche del polmone, come la fibrosi idiopatica o la sarcoidosi, i livelli sierici di PIIINP possono essere normali, ma concentrazioni elevate di PIIINP possono essere trovate nel liquido di lavaggio bronco-alveolare.

Il PIIINP è aumentato nelle malattie mieloproliferative, particolarmente durante le fasi attive della mielofibrosi. Nella policitemia vera, elevati valori di PIIINP possono predire una trasformazione della malattia in una metaplasma mioeloide.

Livelli aumentati di PIIINP sono stati trovati in numerose malattie tumorali che interessano il fegato e nel tumore mammario con metastasi ossee, dove le variazioni dei livelli di PIIINP sono utili per valutare la risposta alla terapia, o nel carcinoma ovarico, dove le variazioni dei livelli di PIIINP sono correlate con la progressione della malattia.

Le concentrazioni sieriche di PIIINP rappresentano un indicatore dei processi di riparazione dopo infarto del miocardio, forniscono informazioni sulla futura funzionalità del ventricolo sinistro e sulle sue variazioni di volume ed è stato dimostrato che sono correlate con la cicatrizzazione, la disfunzione del ventricolo sinistro e la sopravvivenza del soggetto colpito da infarto. L'aumento dei livelli di PIIINP nei quattro giorni successivi all'infarto si è dimostrato maggiore nei soggetti con prognosi più sfavorevole. I livelli di PIIINP si sono rivelati un parametro prognostico per il rischio di morte o di durata dell'ospedalizzazione dei soggetti colpiti da infarto.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test UniQ PIIINP RIA è un metodo radioimmunologico competitivo.

Campioni e calibratori contenenti PIIINP competono con PIIINP marcato con ¹²⁵I per un numero limitato di siti di un anticorpo ad alta affinità anti PIIINP. Dopo la separazione dell'antigene libero, la radioattività nelle provette è inversamente proporzionale alla concentrazione di PIIINP in campioni e calibratori. Si traccia una curva di taratura e si calcolano per interpolazione sulla curva le concentrazioni dei campioni.

4. REATTIVI

UniQ® PIIINP RIA, Cat. N. 68570

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	5 settimane
Anticorpo ORIG RAB	Ab	22 ml	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	5 settimane
Calibratore ORIG HUM	CAL xx µg/l	7 x 1,5 ml	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	5 settimane
Controllo ORIG HUM	CONTROL	1,5 ml	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	5 settimane dopo la ricostituzione
Reattivo di separazione	REAG SEPAR	60 ml	Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta	5 settimane
Istruzioni per l'uso				

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

Preparazione dei reagenti

Il controllo è liofilizzato.

Permettere al flacone del controllo di raggiungere l'equilibrio a temperatura ambiente (18...25°C) prima di aprirlo. Ricostituire il controllo aggiungendo 1,5 ml di acqua distillata nel flacone. Tappare e agitare bene per inversione evitando la formazione di schiuma. Attendere 30 minuti prima di utilizzare il controllo ricostituito.

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 ¹²⁵I (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 implicano 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 DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE

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 o emolizzati.

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 di siero 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 PIIINP devono essere diluiti con fisiologica (NaCl 0,9%).

7. PROCEDURA

Consultare il capitolo 4 “Reattivi”.

Materiale richiesto ma non fornito

Oltre alla normale attrezzatura di laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- Pipette (200 µl, 500 µl e 1,5 ml)
- Provette
- Carta assorbente
- Parafilm
- Mixer tipo Vortex
- Bagno d'acqua (Capace di mantenere 37 ±1°C)
- Supporto per la decantazione
- Centrifuga (Capacità di almeno 2000 g)
- Gamma counter
- Acqua distillata

Strumentazione

Può essere utilizzato ogni gamma counter in grado di misurare ¹²⁵I. L'efficienza del conteggio dello strumento dovrebbe essere regolarmente controllata. Si raccomanda di calibrare periodicamente lo strumento. Consultare il manuale operativo fornito dal costruttore dello strumento per i dettagli per l'installazione, l'utilizzo, la manutenzione e la calibrazione.

Metodo del dosaggio in dettaglio

1	Portare i reattivi a temperatura ambiente (18...25 °C) almeno 30 minuti prima dell'uso.
2	Numerare in duplicato le provette necessarie per il dosaggio di NSB, calibratori, controlli e campioni e due provette per la determinazione dell'attività totale.
3	Pipettare 200 µl di calibratori, controlli e campioni nelle rispettive provette. Pipettare 200 µl di un campione qualsiasi nelle provette per gli NSB. Non pipettare nulla nelle provette per l'attività totale.
4	Aggiungere in tutte le provette, comprese quelle per l'attività totale, 200 µL di marcato (rosso).
5	Pipettare 200 µl di anticorpo (blu) in tutte le provette eccetto quelle per gli NSB e per l'attività totale. Pipettare 200 µl di acqua distillata nelle provette per gli NSB.
6	Agitare brevemente tutte le provette con vortex, coprire le provette con parafilm e incubarle 2 ore a 37±1°C in bagno termostato.
7	Agitare per inversione il reattivo precipitante e dispensarne 500 ml in tutte le provette eccetto quelle per l'attività totale.
8	Agitare le provette su vortex e incubarle 30 minuti a temperatura ambiente (18...25°C).
9	Centrifugare tutte le provette, eccetto quelle per l'attività totale, 15 minuti a 2000 g (minimo) a 4–20°C (temperatura raccomandata 4°C).
10	Decantare le provette, eccetto quelle per l'attività totale, e lasciarle capovolte su un foglio di carta assorbente. Picchiare delicatamente sul fondo le provette per allontanare il liquido residuo. Fre attenzione a non provocare il distacco del precipitato dal fondo delle provette. Una volta riportate le provette in posizione verticale, non capovolverle di nuovo. Una decantazione incompleta può generare risultati non corretti.
11	Contare le provette in un contatore gamma per almeno un minuto o fino a 10000 conte.
12	Calcolare i risultati come descritto nel paragrafo "Calcolo dei risultati".

Riassunto del metodo del dosaggio

(Tutti volumi sono riportati in µl)

	Totale	NSB	Calibratore	Controllo/ Campione
Pipettare il campione		200	200	200
Pipettare il tracciante (rosso)	200	200	200	200
Pipettare l'antisiero (blu)			200	200
Pipettare l'acqua distillata		200		
Agitare		x	x	x
Incubare 2 ore a 37°C		x	x	x
Pipettare il reattivo di separazione		500	500	500
Agitare		x	x	x
Incubare per 30 minuti a 18..25°C		x	x	x
Centrifugare per 15 minuti a 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 che utilizzano sieri di controllo sia ad alte che a basse concentrazioni utilizzati nelle curve di calibrazione, in modo da monitorare le performance della procedura analitica. Il kit UNIQU PIIINP RIA fornisce un solo controllo: PIIINP RIA Control. Il valore atteso del controllo è riportato sul foglio del controllo di qualità fornito dal kit. E' raccomandabile che ogni laboratorio produca i propri valori di riferimento per il controllo utilizzato. La media dei valori dovrebbe cadere all'interno dell'intervallo fornito da Aidian. E' consigliato utilizzare almeno due controlli con numeri di lotto diversi.

9. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

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

- **Calcolare** la media delle cpm di calibratori, controlli e campioni.
- **Calcolare** la il rapporto di competizione B/B_0 %:

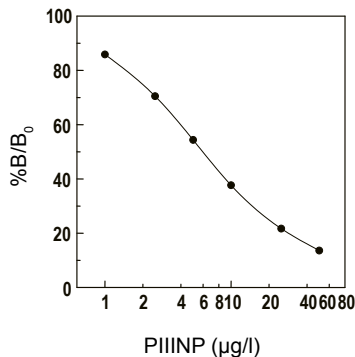
$$\%B/B_0 = \frac{\text{cpm calibratore o campione} - \text{cpm NSB}}{\text{cpm calibratore 0} - \text{cpm NSB}} \times 100$$

dove B è il legame di radioattività di un campione o di un calibratore, B_0 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 (y) e le concentrazioni di PIIINP ($\mu\text{g/L}$) dei calibratori (x) in ascisse.
- **Leggere** le concentrazioni di PIIINP 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.

Tubo	media cpm	cpm-NSB	%B/B₀	PIIINP (µg/l)
Total	48807			
NSB	679			
Cal 0	30976	30297		
Cal 1.0	26705	26026	85,9	
Cal 2.5	22047	21368	70,5	
Cal 5.0	17163	16484	54,4	
Cal 10	12100	11421	37,7	
Cal 25	7241	6562	21,7	
Cal 50	4795	4116	13,6	
Campione 1	17342	16663	55,0	4,9
Campione 2	8468	7789	25,7	19,0

10. LIMITI DEL METODO

Per prendere decisioni diagnostiche e terapeutiche corrette, il dosaggio del PIIINP deve essere affiancato da dati clinici e strumentali.

11. VALORI DI RIFERIMENTO

Per variazioni dovute alla razza, all'età o alla dieta, i valori di riferimento sopra riportati potrebbero non applicarsi alla popolazione afferente al laboratorio. Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento.

I valori di PIIINP in adulti apparentemente sani (19–65 anni) sono stati misurati con il kit UniQ PIIINP RIA. E' stato utilizzato un metodo non parametrico raccomandato dalla IFCC per calcolare i limiti inferiore e superiore dell'intervallo di riferimento.

Tabella 2 Intervalli di riferimento del PIIINP nel siero

	Adulti
Numero dei soggetti	232
Media	3,7 µg/l
Intervallo di riferimento*	2,3–6,4 µg/l
Intervalli di confidenza	
per il limite inferiore	1,9–2,6 µg/l
per il limite superiore	5,5–6,7 µg/l

*Intervallo di riferimento = 0,025 e 0,975 percentili

I valori di riferimento pediatrici sono stati determinati da una popolazione pediatrica sana con età da 0 a 19 anni (modificato da Trivedi P et al. J Pediatr 1989; 114:225-230).

Tabella 3 Valori di riferimento pediatrici di PIIINP

Gruppo età	n (F)	Femmine (µg/l)	n (M)	Maschi (µg/l)
1–3 mesi	4	53,22 ± 10,87	5	62,05 ± 15,59
3–6 mesi	5	31,25 ± 6,53	13	33,94 ± 9,35
6–9 mesi	7	19,71 ± 3,53	4	18,14 ± 3,26
9–12 mesi	3	19,88 ± 6,16	4	15,25 ± 4,65
1–2 anni	9	13,45 ± 2,25	7	11,71 ± 4,30
2–3 anni	10	9,85 ± 2,65	9	8,47 ± 2,53
3–10 anni *)	63	7,75 ± 2,17	79	7,75 ± 2,18
10–11 anni	7	8,02 ± 2,56	12	7,78 ± 1,61
11–12 anni	12	11,23 ± 2,99	9	7,27 ± 2,15
12–13 anni	5	10,85 ± 3,77	6	8,96 ± 2,94
13–14 anni	2	5,84 ± 2,86	4	13,25 ± 5,58
14–15 anni	5	8,09 ± 1,57	2	12,92 ± 4,10
15–16 anni	2	7,34 ± 0,11	7	15,42 ± 4,28
16–17 anni	3	3,98 ± 0,99	–	–
17–18 anni	4	4,07 ± 1,08	5	4,88 ± 1,06

*) Variazioni non significative tra 3–10 anni

12. PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

I risultati riportati sono stati ottenuti da Aidian e rappresentano i dati tipici.

Intervallo di misura

1,0–50 µg/l.

Limite di rilevazione tecnica

La sensibilità del metodo, definita come la concentrazione minima rilevabile equivalente al doppio della deviazione standard delle cpm del calibratore zero è di 0,4 µg/l.

Linearità

La linearità è stata studiata diluendo tre campioni con siero e tre campioni con 0,9% di NaCl. Il recupero medio dei campioni è stato pari a 102% per lo 0,9% di NaCl e pari a 100% per il siero.

Recupero

Quantità note di PIIINP sono state aggiunte a quattro pool di campioni sierici contenenti 2,9–4,5 ug/L di PIIINP. I recuperi sono risultati nel range di 83–100% con un valore medio pari a 93%.

Precisione e riproducibilità

Uno studio di precisione è stato effettuato seguendo le linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), EP5-A3.

Tabella 4: Ripetibilità, precisione nel giorno e nel laboratorio (20 giorni)

Campione	Valore medio PIIINP (µg/l)	N	Ripetibilità		Nel giorno		Nel laboratorio (Totale)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Pool sierico 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Pool sierico 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Pool sierico 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Pool sierico 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

Sostanze interferenti

Non provocano interferenze nel dosaggio concentrazioni di bilirubina fino a 400 µmol/l, di emoglobina fino a 5 g/l e di trigliceridi fino a 30 g/l.

Specificità

Il kit UniQ PIIINP RIA non rileva i prodotti di degradazione del propeptide a basso peso molecolare. Il kit rileva il propeptide e le sue forme ad alto peso molecolare. Il kit RIA UniQ PIIINP non cross-reagisce con gli antigeni utilizzati nei kit RIA UniQ PINP RIA.

13. TRACCIABILITÀ

L'analita presente nel UniQ PIIINP RIA è tracciabile rispetto ai calibratori di riferimento del produttore, preparati da PIIINP 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
 - Gommapiuma
 - Vetro: Fiale del tracciante, dell'antisiero, del calibratore e del controllo
- 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® PIIINP RIA

Intaktní N-terminální propeptid prokolagenu typu III, Radioimunoanalytické stanovení, zkumavky s navázanou protilátkou

1. URČENÝ ÚČEL POUŽITÍ

UniQ PIIINP RIA je kvantitativní radioimunoanalytický test určený pro stanovení koncentrací aminoterminálního propeptidu prokolagenu typu III v lidském séru. **Pro diagnostické použití *in vitro*.**

2. SOUHRN A VÝKLAD

Kolagen typu III je syntetizován jako prokolagen obsahující propeptidová prodloužení na obou koncích molekuly. Některé aminoterminální propeptidy se během syntézy a ukládání kolagenu typu III uvolní, některé jsou zadrženy v molekulách, které zůstávají na povrchu kolagenových vláken. Je-li tento antigen nalezen v séru, může tedy pocházet buď ze syntézy (včetně pozdního zpracování) nového kolagenu typu III, nebo z degradace existujících fibril kolagenu typu III.

Podrobné údaje o dalším metabolismu PIIINP nejsou dosud známy. Menší degradační produkty související s PIIINP se nacházejí v séru a jsou vylučovány močí. V séru se rovněž nacházejí antigeny o vyšší molekulové hmotnosti než propeptid. Jejich přesná molekulová stavba není dosud známa.

Zvýšené koncentrace PIIINP se vyskytují u řady klinických stavů, kde dochází buď k hromadění, nebo rozpadu pojivové tkáně, tj. při fibroproliferativních, hematologických, endokrinologických a maligních onemocněních. Změny v hladině PIIINP tedy nejsou specifické pro určitou chorobu, nýbrž odrážejí účast kolagenu III a změny jeho metabolismu.

Reakce na léčbu růstovými hormony u dětí s růstovým deficitem se odráží rychle zvýšenou hladinou PIIINP v séru poskytující možnost identifikovat pacienty odpovídající na léčbu.

Při jaterní fibróze a cirhóze různého původu vzrůstá koncentrace PIIINP. PIIINP poskytuje neinvazivní způsob kontroly léčby methotrexátem čímž se snižuje potřeba provést biopsii jater.

U pacientů s chronickou hepatitidou C s pokročilou fibrózou je PIIINP užitečným nástrojem pro sledování změn v průběhu fibrózy a po antivirové terapii a zároveň může u těchto pacientů poskytnout prognostické informace. Při fibrótickém stavu plic jako je idiopatická fibróza plic nebo pulmonární sarkoidóza, hladina PIIINP v séru může být v normě, ale vysoká koncentrace může být zjištěna v bronchoalveolárním promývacím roztoku.

Hladina PIIINP je zvýšena u myeloproliferativních chorob, zejména během aktivní fáze myelofibrózy. Při výskytu polycythaemia vera mohou vysoké hladiny PIIINP naznačovat, že došlo k transformaci na myeloidní metaplasii. Zvýšené hladiny PIIINP v séru se vyskytují při několika maligních onemocněních, např. u karcinomu postihujících játra. U karcinomu prsu s kostními metastázami mohou změny v hladinách PIIINP sloužit jako indikátor odezvy na terapii. U ovariálního karcinomu jsou sérové hladiny PIIINP citlivějším indikátorem reziduálního tumoru než CA125 a změny v hladinách PIIINP rovněž korelují s vývojem choroby.

Koncentrace PIIINP v séru odráží proces hojení po infarktu myokardu a předpovídá funkčnost levé komory a objemové změny. Byla také prokázána souvislost s hojením jizev, s disfunkcí levé komory a mírou přežití. Zvýšení hladiny PIIINP v séru do 4 dnů po infarktu ukazuje, že je hladina vyšší u pacientů se špatnou odezvou na léčbu. PIIINP má také hodnotu prognostického ukazatele úmrtní nebo nutnosti hospitalizace.

3. PRINCIP TESTU

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

4. REAGENCIE

UniQ® PIIINP RIA, kat. č. 68570

Název a původ složky	Použité symboly	▽ 100	Stabilita při 2...8°C	
			Neotevřené	Otevřené
Radioindikátor	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktivita < 200 kBq	Do data expirace vyznačeného na štítku	5 týdnů
Antisérum ORIG RAB	Ab	22 ml	Do data expirace vyznačeného na štítku	5 týdnů
Kalibrátor ORIG HUM	CAL xx µg/l	7 x 1,5 ml	Do data expirace vyznačeného na štítku	5 týdnů
Kontrola ORIG HUM	CONTROL	1,5 ml	Do data expirace vyznačeného na štítku	5 týdnů po rekonstituci
Prokolagenová separační reagencie	REAG SEPAR	60 ml	Do data expirace vyznačeného na štítku	5 týdnů
Návod k použití				

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

Příprava reaglií

Kontrola je lyofilizovaná. Všechny ostatní reagencie jsou připravené k použití.

Lahvičku s kontrolou ještě před jejím otevřením vytemperujte na pokojovou teplotu (18...25°C). Kontrolu rekonstituujte přidávkem 1,5 ml destilované nebo deionizované vody do lahvičky. Zavřete víčko a důkladně promíchejte jemným kroužením nebo převrácením, zamezte přitom tvorbě pěny. Před použitím nechejte stát 30 minut.

Zhoršení stavu reaglií

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

5. UPOZORNĚNÍ A VAROVÁNÍ

Údaje o zdraví a bezpečnosti

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Nepipetujte ústy.
- Se všemi vzorky pacientů a kontrolou je nutné zacházet jako s potenciálně infekčním materiálem.
- Kontrolní materiál obsahuje složky lidského původu, které byly testovány a shledány 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 kontrolou zacházejte jako s materiálem potenciálně infekčním.
- Lyofilizované reagencie 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 azidů v odpadním potrubí při likvidaci reagiencí zabráníte tak, že odpad spláchnete velkým množstvím vody.
- Rekonstituované a tekuté reagencie 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 čistící 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 reagencie.
- Nemíchejte komponenty z různých šarží nebo různých testů.

6. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Před odběrem vzorku není nutná žádná speciální příprava pacienta.

Používejte sérum, asepticky odeberte venózní krev za dodržení běžných bezpečnostních opatření.

Test neprovádějte se vzorky plazmy.

Nepoužívejte vzorky pacientů, které jsou vysoce lipemické nebo hemolyzované.

Manipulace se vzorkem; skladování vzorku

Po odběru vzorku nechte krev srazit 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 PIIINP lze ředit pomocí 0,9 % NaCl.

7. PRACOVNÍ POSTUP

Seznam reagensů – viz. sekce 4 Reagencie.

Potřebný materiál, který není součástí soupravy:

- Mikropipety pro přesné dávkování 200 µl, 500 µl a 1,5 ml
- Testovací zkumavky (polypropylen nebo polystyren)
- Buničitá vata
- Krycí folie parafilm
- Vibrační míchadlo
- Vodní lázeň s teplotou 37 ±1°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, údržba a kalibrace najdete v návodu k obsluze dodávaného výrobcem přístroje.

Podrobný popis postupu

1	Temperujte všechny reagenty a vzorky na laboratorní teplotu (18–25°C) alespoň 30 minut před použitím.
2	Označte sadu zkumavek v duplikátech pro nespecifickou vazbu (NSB), kalibrátory, kontrolu, vzorky sér pacientů a pro celkovou aktivitu.
3	Do odpovídajících zkumavek napipetujte po 200 µl kalibrátorů, kontrolního vzorku a vzorků sér pacientů. Do zkumavek pro stanovení nespecifické 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 ±1°C.
7	Separční činidlo nejprve důkladně promíchejte šetrným převrácením lahvičky dnem vzhůru a přidejte po 500 µl do všech zkumavek s výjimkou zkumavek s celkovou aktivitou.

8	Obsah zkumavek důkladně promíchejte na vibračním míchadle a inkubujte dalších 30 minut při laboratorní teplotě (18...25°C).
9	Zkumavky centrifugujte 15 minut při nejméně 2000 g při teplotě v rozmezí 4...20°C (doporučovaná teplota je 4°C).
10	Obsah všech zkumavek, vyjma 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 precipitátu. 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 gamma-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 sérum
Napipetujte vzorek		200	200	200
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 reagentii		500	500	500
Promíchejte		x	x	x
Inkubujte 30 min. při pokojové teplotě		x	x	x
Centrifugujte 15 minut při 2000 g		x	x	x
Dekantujte		x	x	x
Měřte 1 min nebo 10 000 impulsů	x	x	x	x

8. KONTROLA KVALITY

Všem klinickým laboratořím je v rámci interního programu zajišťování jakosti doporučováno provádět kontrolu postupu stanovením koncentrací při horní i při dolní hranici kalibrační křivky. Souprava UniQ PIIINP RIA obsahuje jeden kontrolní materiál : PIIINP RIA kontrolu. Očekávaný rozsah kontroly je uvedený na zvláštním letáku, dodávaném se soupravou. Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila vlastní přijatelný rozsah vnitřní kontroly používaný v dané laboratoři. Střední hodnota rozsahu kontrolního vzorku má spadat do stanoveného rozsahu uváděného f. Aidian. Pro stanovení hodnot kontrolního vzorku se doporučuje použít soupravy nejméně dvou různých šarží. Poté, co se stanoví rozsah kontroly, musí se kontrola 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 impulsů pro všechny kalibrátory, vzorky a kontroly.
- **Vypočtete** $\%(B/B_0)$ podle vzorce:

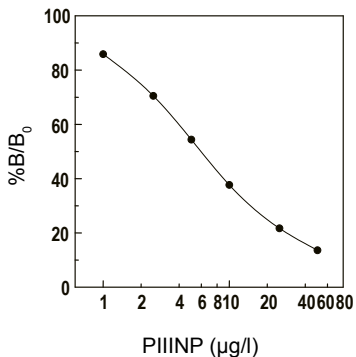
$$\%(B/B_0) = \frac{\text{četnost kalibrátoru nebo vzorku} - \text{NSB}}{\text{četnost nulového kalibrátoru} - \text{NSB}} \times 100$$

kde B je navázaná radioaktivita vzorku nebo kalibrátoru, B_0 je navázaná radioaktivita kalibrátoru 0 a NSB je radioaktivita nespecifické vazby.

- **Vyneste** kalibrační křivku na semilogaritmický papír z hodnot $\%(B/B_0)$ na ose y a odpovídajících koncentrací PIIINP ($\mu\text{g/l}$) kalibrátorů na ose x.
- **Stanovte** koncentrace PIIINP 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	$\%(B/B_0)$	PIIINP ($\mu\text{g/l}$)
Celková aktivita	48807			
NSB	679			
Kal 0	30976	30297		
Kal 1.0	26705	26026	85,9	
Kal 2.5	22047	21368	70,5	
Kal 5.0	17163	16484	54,4	
Kal 10	12100	11421	37,7	
Kal 25	7241	6562	21,7	
Kal 50	4795	4116	13,6	
Neznámý vzorek 1	17342	16663	55,0	4,9
Neznámý vzorek 2	8468	7789	25,7	19,0

10. OMEZENÍ METODY

Měření PIIINP by nemělo být jediným parametrem pro stanovení diagnózy a léčby, ale mělo by být podpořeno 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 PIIINP byly vypočítány pro zdravé dospělé osoby na základě vzorků krve zjevně zdravých dospělých osob ve věku 19–65 let. Ke kalkulaci intervalů pro dolní a horní mez bylo použito neparametrické metody doporučené IFCC.

Tabulka 2 Referenční hodnoty hladin PIIINP v séru

	Dospělí
Počet sledovaných osob	232
Průměr	3,7 µg/l
Referenční interval*	2,3–6,4 µg/l
0,90 intervaly spolehlivosti	
pro dolní referenční mez	1,9–2,6 µg/l
pro horní referenční mez	5,5–6,7 µg/l

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

Referenční hodnoty u dětí byly naměřeny u zdravých dětí ve věku 0–19 let (modifikováno dle Trivendi P a kol. J. Pediatr 1989; 114:225–230).

Tabulka 3 Referenční hodnoty u dětí

Věková skupina	n (D)	Divky (µg/l)	n (C)	Chlapci (µg/l)
1–3 měsíce	4	53,22 ± 10,87	5	62,05 ± 15,59
3–6 měsíců	5	31,25 ± 6,53	13	33,94 ± 9,35
6–9 měsíců	7	19,71 ± 3,53	4	18,14 ± 3,26
9–12 měsíců	3	19,88 ± 6,16	4	15,25 ± 4,65
1–2 roky	9	13,45 ± 2,25	7	11,71 ± 4,30
2–3 roky	10	9,85 ± 2,65	9	8,47 ± 2,53
3–10 let *)	63	7,75 ± 2,17	79	7,75 ± 2,18
10–11 let	7	8,02 ± 2,56	12	7,78 ± 1,61
11–12 let	12	11,23 ± 2,99	9	7,27 ± 2,15
12–13 let	5	10,85 – 3,77	6	8,96 ± 2,94
13–14 let	2	5,84 ± 2,86	4	13,25 ± 5,58
14–15 let	5	8,09 ± 1,57	2	12,92 ± 4,10
15–16 let	2	7,34 ± 0,11	7	15,42 ± 4,28
16–17 let	3	3,98 ± 0,99	–	–
17–18 let	4	4,07 ± 1,08	5	4,88 ± 1,06

*) Signifikantní změny ve věku 3–10 let nebyly pozorovány.

12. ANALYTICKÉ PARAMETRY MĚŘENÍ

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

Měřicí rozmezí

1,0–50 µg/l.

Mez detekce

Meze detekce, přibližně 0,4 µg/l, je definována jako dvojnásobek standardní odchylky nulového kalibrátoru.

Linearita

Linearita byla sledována zředěním 3 vzorků sérem a 3 vzorků 0,9% NaCl. Průměrný výtěžek ze vzorků byl 102% pro 0,9% NaCl a 100% pro sérum.

Metoda standardního přidavku (recovery)

Známa množství PIIINP byla přidána ke čtyřem vzorkům sérových poolů obsahujícím 2,9–4,5 µl/l PIIINP. Průměrný výtěžek ze vzorků byl v rozmezí 83–100% se střední hodnotou 93%.

Přesnost a reprodukovatelnost

Studie přesnosti byla provedena v souladu s pokyny Institutu klinických a laboratorních standardů (CLSI) EP5-A3.

Tabulka 4 Opakovatelnost, mezi dny a v laboratoři (20 dní)

Vzorek	Hodnota PIIINP (µg/l)	Počet	Opakovatelnost		Mezi dny		V laboratoři (Celkem)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Sérový pool 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Sérový pool 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Sérový pool 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Sérový pool 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

Interferující látky

Sérový bilirubin do koncentrace < 400 µmol/l, hemoglobin do koncentrace < 5 g/l a triglyceridy do koncentrace < 30 g/l neinterferují s měřením PIIINP.

Specifická

Intaktní UniQ PIIINP RIA kit není citlivý k pomalu odbourávaným složkám nacházejícím se v krvi. Měří propeptid a jeho formy o vyšší molekulové hmotnosti. UniQ PIIINP RIA zkříženě nereaguje s antigeny použitými v soupravách UniQ PINP RIA.

13. NÁVAZNOST

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

14. LIKVIDACE

- Odstraňte obsah podle národních a místních zákonů.
- Všechny vzorky pacientů a kontrolu 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 kontroly
 - Peňová guma
- Jestliže jsou dodávané reagentie používány podle zásad správné laboratorní praxe, dobré pracovní hygieny a podle instrukcí v tomto návodu k použití, neměly by představovat zdravotní riziko.

UniQ® PIIINP RIA

Zestaw radioimmunologiczny do oznaczania całkowitego
N-końcowego propeptydu prokolagenu typu III

1. PRZEZNACZENIE

Zestaw UniQ PIIINP RIA jest przeznaczony do oznaczania całkowitego stężenia N-końcowego propeptydu prokolagenu typu III w surowicy krwi. Zastosowano tu technikę radioimmunometryczną. **Do badań *in vitro*.**

2. PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIA

Kolagen typu III jest pochodną większej cząsteczki białkowej, prokolagenu typu III, która posiada na obu końcach przedłużenia propeptydowe. Niektóre z propeptydów aminokońcowych, są uwalniane podczas syntezy i budowania kolagenu typu III, inne zaś pozostają na cząsteczkach znajdujących się na powierzchni włókien kolagenowych. Antygen ten, jeżeli znajduje się w surowicy, może pochodzić z syntezy (również z późniejszego przetworzenia) nowego kolagenu typu III lub z rozpadu istniejących włókien kolagenowych typu III.

Szczegóły metabolizmu PIIINP nie są znane. Mniejsze cząsteczki pochodzące z degradacji cząsteczek spokrewnionych z PIIINP, można znaleźć w surowicy i w moczu. W surowicy występują również przeciwciała o masie cząsteczkowej większej niż ten propeptyd. Ich dokładna struktura molekularna jest nieznana.

Podwyższone poziomy PIIINP wykrywa się w różnych przypadkach, w których ma miejsce akumulacja i/lub rozpad tkanki łącznej, np. w schorzeniach fibroproliferacyjnych, hematologicznych, endokrynologicznych i o przebiegu złośliwym. Z tego powodu, zmiany stężenia PIIINP nie są ściśle określone dla danej choroby, ale odzwierciedlają zmiany w metabolizmie kolagenu typu III.

U dzieci z niedoborem wzrostu, szybki wzrost stężenia PIIINP w surowicy krwi odzwierciedla odpowiedź na leczenie hormonalne, umożliwiając tym sposobem rozpoznanie tych osób, które reagują na terapię.

Zarówno zwłóknienie, jak i marskość wątroby o różnym podłożu etiologicznym zwiększają stężenie PIIINP w surowicy. Tak więc, PIIINP zapewnia bezinwazyjną metodę monitorowania chorych na łuszczycę, którzy są leczeni metotreksatem, zmniejszając tym samym konieczność przeprowadzenia biopsji wątroby. U chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, u których stwierdzono zaawansowane zwłóknienie, PIIINP jest pomocny w obserwacji pod kątem zmian w zwłóknieniu zarówno w trakcie jak i po terapii antywirusowej i może zapewnić prognostyczne informacje dotyczące tych pacjentów. W przypadku zwłóknień płuc, takich jak idiopatyczne zwłóknienie płuc lub sarkoidoza płuc, stężenia PIIINP w surowicy mogą być prawidłowe, podczas gdy te same stężenia mogą być zwiększone w płynie z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego.

Poziom PIIINP w surowicy wzrasta również w chorobach rozrostowych szpiku kostnego, zwłaszcza w trakcie aktywnych faz zwłóknienia szpiku. W przypadku czerwonicy prawdziwej, wysoka wartość PIIINP pozwala przewidzieć przekształcenie w metaplastę szpikową.

Zwiększone stężenia PIIINP w surowicy towarzyszą kilku chorobom nowotworowym, np. nowotworom wątroby. W przypadku raka piersi z przerzutami, zmiany stężenia PIIINP mogą służyć jako wskaźnik reakcji na leczenie, natomiast w przypadku raka jajnika, zmiany stężenia PIIINP korelują z rozwojem choroby.

Stężenie PIIINP w surowicy odzwierciedla procesy gojenia po zawale serca i pozwala przewidzieć zmiany czynnościowe i objętościowe lewej komory serca. Wykazano również, iż koreluje ono z powstawaniem blizn, dysfunkcją lewej komory oraz współczynnikiem przeżycia. Ponadto wykazano, iż wzrost stężenia PIIINP cztery dni po zawale jest większy u chorych ze słabymi wynikami. Co więcej, PIIINP ma wartość prognostyczną w przypadku śmiertelności i hospitalizacji.

3. ZASADY TESTU

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

4. ODCZYNNIKI

UniQ® PIIINP RIA, Nr kat 68570

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	5 tygodni
Przeciwciało ORIG RAB	Ab	22 ml	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	5 tygodni
Wzorce ORIG HUM	CAL xxµg/l	7 x 1,5 ml	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	5 tygodni
Surowice kontrolne ORIG HUM	CONTROL	1,5 ml	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	do 5 tygodnia po rozpuszczeniu
Odczynnik separujący Prokolagen	REAG SEPAR	60 ml	Do końca daty ważności podanej na etykiecie	5 tygodni
Instrukcja użycia				

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

Przygotowanie odczynnika

Kontrola jest poddana liofilizacji. Wszystkie pozostałe odczynniki są gotowe do użycia.

Doprowadzić fiołki do temperatury pokojowej (18...25°C), przed ich otwarciem. Rozpuścić surowicę kontrolną dodając po 1,5 ml wody destylowanej lub dejonizowanej do 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 surowicy kontrolnej 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

- Wyłącznie do użytku w diagnostyce *in vitro*.
- Nie pipetować ustami.
- Wszystkie próbki pacjentów i kontrolę 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% azydku 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 azydku można przeciwdziałać, spłukując wylewane odczynniki dużą ilością wody.
- Odczynniki rekonstruowane i płynne zawierają <0,1 azydku. 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 i 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 odzaskić 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 jądowego 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 lub zhemolizowane.

Przechowywanie 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 PIIIINP można rozcieńczać solą fizjologiczną (0,9% roztwór NaCl).

7. PROCEDURA ANALITYCZNA

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

Potrzebne materiały nieuwzględnione w zestawie

- Pipety (200 µl, 500 µl I 1,5 ml)
- Próbówki (Polipropylen/Polistyren)
- Lignina lub bibuła
- Parafilm
- Mieszadło (Vortex)
- Łażnia wodna (Temp. 37 ±1°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 ¹²⁵I. 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 (18...25°C) na co najmniej 30 minut przed użyciem.
2	Oznakować próbówki w dubletach dla NSB (próba ślepa), wzorców, kontroli, próbek i pomiarów TOTAL.
3	Wpipetować 200 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 próbówki na vortexie, zakryć parafilmem i inkubować przez 2 godziny w temperaturze 37 ±1°C.
7	Wymieszać dokładnie odczynnik separujący delikatnie odwracając fiolkę i dodać po 500 µl do wszystkich próbek, poza TOTAL.
8	Wymieszać wszystkie próbówki na vortexie i inkubować przez 30 minut w temperaturze pokojowej (18...25°C).
9	Odwirować wszystkie próbówki (poza TOTAL) na wirówce przy minimum 2000 g, w temperaturze 4...20°C (zaleca się 4°C), przez 15 minut.
10	Zekantować supernatant z próbek (poza TOTAL) i wytrząsnąć resztki płynu uderzając górą próbek o bibułę. Pozostawić próbówki 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 próbówki 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		200	200	200
PWpipetować 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

	Total	NSB	Wzorzec	Kontrola i próbka badana
Wpipetować odczynnik separujący		500	500	500
Wymieszać		x	x	x
Inkubować 30 min/TP		x	x	x
Odwirować 15 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 PIIINP RIA znajduje się jedna surowica kontrolna: PIIINP RIA Control. Wartości oczekiwane są podane na osobnej ulotce dołączonej do zestawu.

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

9. INTERPRETACJA WYNIKU TESTU

Jeżeli stosuje się licznik automatyczny, zalecanym sposobem wyznaczania krzywej wzorcowej jest funkcja SPLINE. Jeżeli krzywą wzorcowa 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:

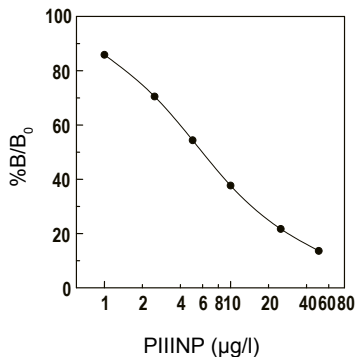
$$\%B/B_0 = \frac{\text{zliczenia dla wzorców lub próbek} - \text{NSB}}{\text{0-zliczenia dla wzorców} - \text{NSB}} \times 100$$

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

- **Naszkicować** krzywą wzorcową na papierze półlogarytmicznym z wartościami %B/B₀ na rzędnej (oś-Y) i wartościami stężenia PIIINP (µg/l) wzorców na odciętej (oś-X).
- **Odczytać** wartości stężenia PIIINP 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 orientacyjjna.



Tab. 1 Obliczenie wyników na podstawie przykładowych danych.

Danych tych nie należy używać do obliczania własnych wyników testu.

Próbówka	średnia cpm	cpm-NSB	%B/B₀	PIIINP (µg/l)
Total	48807			
NSB	679			
Cal 0	30976	30297		
Cal 1.0	26705	26026	85,9	
Cal 2.5	22047	21368	70,5	
Cal 5.0	17163	16484	54,4	
Cal 10	12100	11421	37,7	
Cal 25	7241	6562	21,7	
Cal 50	4795	4116	13,6	
Próbka bad.	17342	16663	55,0	4,9
Próbka bad.	8468	7789	25,7	19,0

10. OGRANICZENIA PROCEDURY

Wyniki, które miałyby stanowić podstawę dla celów diagnostycznych i/lub terapeutycznych muszą być poparte innymi odpowiednimi danymi klinicznymi.

11. SPOSÓB 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 PIIINP RIA zmierzono poziom PIIINP u zdrowych osób dorosłych (19–65 lat). Następnie obliczono zakresy morn oraz przedziały referencji dla granicy górnej i dolnej, za pomocą bezparametrowej metody zalecanej przez IFCC.

Tabela 2 Limity referencyjne PIIINP w surowicy

	Dorośli
Ilość badanych	232
Średnia	3,7 µg/l
Zakres normy*	2,3–6,4 µg/l
Przedziały ufności 0,90	
dla dolnej granicy normy	1,9–2,6 µg/l
dla górnej granicy normy	5,5–6,7 µg/l

*Przedział referencyjny = 0,025 & 0,975

Przedziały referencji dla dzieci pochodzą od zdrowej populacji dzieci w wieku od 0 miesięcy do 19 lat (zmodyfikowane z Trivedi P et al. J Pediatr 1989; 114:225–230).

Tabela 3 Zakresy normy PIIINP u dzieci

Grupa wiekowa	n (D)	Dziewczęta (µg/l)	n (C)	Chłopcy (µg/l)
1–3 m-ce	4	53,22 ± 10,87	5	62,05 ± 15,59
3–6 m-cy	5	31,25 ± 6,53	13	33,94 ± 9,35
6–9 m-cy	7	19,71 ± 3,53	4	18,14 ± 3,26
9–12 m-cy	3	19,88 ± 6,16	4	15,25 ± 4,65
1–2 lata	9	13,45 ± 2,25	7	11,71 ± 4,30
2–3 lata	10	9,85 ± 2,65	9	8,47 ± 2,53
3–10 lat *)	63	7,75 ± 2,17	79	7,75 ± 2,18
10–11 lat	7	8,02 ± 2,56	12	7,78 ± 1,61
11–12 lat	12	11,23 ± 2,99	9	7,27 ± 2,15
12–13 lat	5	10,85 – 3,77	6	8,96 ± 2,94
13–14 lat	2	5,84 ± 2,86	4	13,25 ± 5,58
14–15 lat	5	8,09 ± 1,57	2	12,92 ± 4,10
15–16 lat	2	7,34 ± 0,11	7	15,42 ± 4,28
16–17 lat	3	3,98 ± 0,99	–	–
17–18 lat	4	4,07 ± 1,08	5	4,88 ± 1,06

*) brak znaczących zmian pomiędzy 3–10 lat

12. CHARAKTERYSTYKA ZESTAWU

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

Zakres pomiarów

1,0–50 µg/l.

Granica technicznej wykrywalności

Okolo 0,4 µg/l, określona jako podwojone odchylenie standardowe wartości wzorca zero.

Liniowość

Liniowość była badana przez rozcieńczenie trzech próbek (n=3) przy pomocy serum i trzech próbek (n=3) przy pomocy 0,9 % NaCl. Średni odzysk 102 % przy pomocy 0,9 % NaCl i średni odzysk 100 % przy pomocy serum.

Odzysk

Znane wartości PIIINP dodano do sześciu próbek surowicy, zawierających 2,9–4,5 µg/l PIIINP. Znotowano odzysk w zakresie 83–100 %, z wartością średnią 93 %.

Zgodność

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

Precyzyja i powtarzalność

Badanie dokładności zostało przeprowadzone zgodnie z wytycznymi EP05-A3 Instytutu Standardów Klinicznych i Laboratoryjnych (CLSI).

Tabela 4 Powtarzalność, zmienność pomiędzy dniami i W ramach laboratorium (20 dni)

Próbka	Średnia PIIINP (µg/l)	N	Powtarzalność		Zmienność pomiędzy dniami		W ramach laboratorium (Total)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Pula surowicy 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Pula surowicy 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Pula surowicy 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Pula surowicy 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

Substancje interferujące

Bilirubina w surowicy o stężeniach < 400 µmol/l nie interferuje. Hemoglobina do stężenia 5 g/l nie interferuje. Triglycerydy do stężenia 30 g/l nie interferują.

Specyficzność

Zestaw intact UniQ PIIINP RIA nie wykazuje czułości na mniejsze produkty (cząsteczki) degradacji znajdujące się we krwi. UniQ PIIINP RIA nie reaguje krzyżowo z antygenami używanymi w zestawie UniQ PINP RIA.

13. WŁAŚCIWOŚCI ZNACZNIKA

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

14. UTYLIZACJA

- Zawartość usuwać zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.
- Wszystkie próbki pacjenta, używane kuwety i probówki 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: fiołki 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® PIIINP RIA

N-terminal propeptid av typ III prokollagen, Radioimmunanalys kit

1. ANVÄNDNINGSMOMÅDE

UniQ PIIINP RIA är en kvantitativ radioimmunanalys avsedd för bestämning av intackt aminoterminal propeptid av typ III prokollagen koncentration i humant serum. **Enbart för *in vitro* diagnostik.**

2. SUMMERING OCH FÖRKLARING

Typ III kollagen bildas från ett större protein, typ III prokollagen, vilket har propeptidgrupper i båda ändarna av molekylen. Några av aminoterminal propeptiderna frigörs under syntesen och inlagringen av typ III kollagen, och några behålls i molekyler som blir kvar på ytan av kollagenfibrillerna. Detta antigen, när det påvisas i serum, kan därför härledas från syntesen (inklusive sen process) av nytt typ III kollagen eller från nedbrytningen av redan bildade typ III kollagenfibriller.

Den följande metabolismen av PIIINP är inte känd i detalj. Små nedbrytnings- produkter relaterade till PIIINP återfinns i serum och utsöndras i urinen. Antigener som har en större molekylvikt än propeptiden återfinns också i serum. Deras exakta molekylstruktur är inte känd.

Ökad koncentration av PIIINP påvisas vid flera tillstånd där uppbyggnad och/eller nerbrytning av bindväv äger rum t.ex. vid fibroproliferativa, hematologiska, endokrinologiska och maligna sjukdomar. Förändringarna av PIIINP är alltså inte specifika för en särskild sjukdom, men avspeglar en inverkan på och förändring av metabolismen för typ III kollagen.

Hos tillväxtunderutvecklande barn visar sig effekten av tillväxtstimulerande behandling i en ökning av serum PIIINP.

Leverfibros och levercirros av olika orsaker ökar serumkoncentrationen av PIIINP. Analys av PIIINP är ett icke-invasivt sätt för övervakning av metotrexatbehandlade psoriasis, vilket minskar behovet av leverbiopsier. I kroniska hepatit C-patienter med avancerad fibros är PIIINP ett användbart verktyg för uppföljning av förändringar i fibros under och efter antiviral terapi. PIIINP används även för att erhålla prognostisk information hos dessa patienter. Vid fibrotiska tillstånd i lungorna, såsom vid en idiopatisk lungfibros eller pulmonär sarkoidos, kan serum PIIINP nivå vara normal men en hög koncentration kan förekomma i bronkoalveolär sköljvätska.

Serum PIIINP är ökad vid myeloproliferativa sjukdomar, särskilt under aktiv fas av myelofibros. Vid polycythaemia vera kan ett högt PIIINP värde förutsäga övergången till myeloid metaplasia.

Ökade serum PIIINP nivåer är kända vid flera maligna sjukdomar t.ex. vid levercancer. Vid bröstcancer med benmetastaser, kan ändring av PIIINP tjäna som en indikator på terapivaret. Vid ovarialcancer korrelerar ändring av serum PIIINP med utvecklingen av sjukdomen.

Serumkoncentrationen av PIIINP återspeglar reparationsprocessen efter hjärtinfarkt och förutsäger vänsterkammarens funktion och volymförändringar. Koncentrationen har också visat sig korrelera med ärrbildning, vänsterkammardysfunktion och överlevnadssiffror. Ökningen av PIIINP i serum fyra dygn efter infarkt har visat sig vara högre hos patienter med dåligt utfall. Dessutom har PIIINP ett värde som en prognostisk markör för dödsfall och sjukhusvård.

3. ANALYSPRINCIP

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

4. REAGENS

UniQ® PIIINP RIA, Cat. No. 68570

Namn och ursprung	Symbol	100	Hållbarhet vid 2...8°C	
			Öppnad	Öppnad
Tracer	Ag ^{125I}	22 ml Radioaktivitet < 200 kBq	till utgångsdatum Se etikett	5 veckor
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	till utgångsdatum Se etikett	5 veckor
Kalibrator ORIG HUM	CAL xxµg/l	7 x 1,5 ml	till utgångsdatum Se etikett	5 veckor
Kontroll ORIG HUM	CONTROL	1,5 ml	till utgångsdatum Se etikett	5 veckor efter uppspädning
Prokollagen Separation Reagens	REAG SEPAR	60 ml	till utgångsdatum Se etikett	5 veckor
Bruksanvisning				

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

Förberedelse av reagenser

Kontrollen är lyofiliserad. Alla andra reagenser är bruksfärdiga.

Låt kontrollflaskan anta rumstemperatur (18...25°C) innan de öppnas. Späd kontrollen genom att tillsätta 1,5 ml destillerat vatten till flaskan. Förslut och blanda ordentligt genom att försiktigt vaggas eller vända flaskan, undvik skumbildning. Låt stå 30 min före användning.

Instabil reagens

Förändringar av reagensets fysiska utseende eller kalibreringskurvans 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

Hälsa- och säkerhetsinformation

- Endast för *in vitro*-användning.
- Pipettera inte med munnen.
- Alla patientprover och kontroller ska hanteras som potentiellt infektiöst material.
- Kontrollen 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-antigen (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 plasmaprover. Starkt lipemiska eller hemolytiska 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 PIINP-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 kitet

- Pipetter (200 µl, 500 µl och 1,5 ml)
- Teströr
- Absorberande papper
- Paraffinfil
- Vortexmixer
- Vattenbad (för att hålla temperatur 37 ±1°C)
- Dekanteringsrack
- Centrifug (Kapacitet minst 2000 g)
- Gammräknare
- Destillerat Vatten

Instrument

Använd en gammräknare 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 teströr som dubbelprov för NSB (non-specific binding), kalibratorer, kontroller, patientprover och total.
3	Pipettera 200 µl av kalibratorer, kontroller och patientprover i de uppmärkta rören. Ett av patient proven 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 paraffinfil 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 rumstemperatur (18...25°C).
9	Centrifugera alla rören utom totalrören 15 minuter vid 2000 x g (minimum) i 4...20°C (4°C rekommenderas).
10	Häll 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 gammräknare 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	Kalibratörer	Kontroll och okänd
Pipettera prov		200	200	200
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 rumstemp.		x	x	x
Centrifugera 15 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 PIIINP RIA följer ett kontroll: PIIINP RIA Control. 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 (kalibratörer, prov och kontroll).
- **Beräkna** %B/B₀ från:

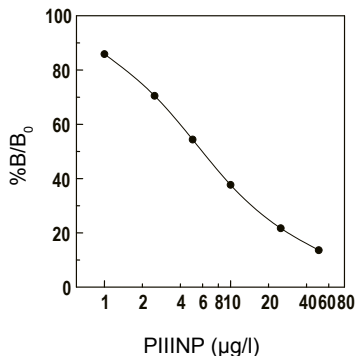
$$\%B/B_0 = \frac{\text{kalibrator eller prov counts} - \text{NSB}}{0\text{-kalibrator counts} - \text{NSB}} \times 100$$

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

- **Rita** en kalibreringskurva på semi-log grafpappret med %B/B₀ värdena på Y-axeln och kalibratörernas PIIINP koncentration (µg/L) för kalibratörerna på X-axeln.
- **Bestäm** PIIINP-koncentrationerna på de okända proverna utifrån kalibreringskurva.
- **Prov som ger resultat under lägsta kalibratörn ska så rapporteras.**
- **Prov som ger resultat över den högsta kalibratörn ska spädas 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	PIIINP (µg/l)
Total	48807			
NSB	679			
Kal 0	30976	30297		
Kal 1.0	26705	26026	85,9	
Kal 2.5	22047	21368	70,5	
Kal 5.0	17163	16484	54,4	
Kal 10	12100	11421	37,7	
Kal 25	7241	6562	21,7	
Kal 50	4795	4116	13,6	
Okänd 1	17342	16663	55,0	4,9
Okänd 2	8468	7789	25,7	19,0

10. BEGRÄNSNINGAR I PROCEDUREN

Som underlag för diagnostiska och terapeutiska beslut måste PIIINP värdet kompletteras med andra kliniskt relevanta undersökningar.

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.

PIIINP värdet för vuxna (19–65 år) analyserades med UniQ PIIINP RIA kit. Den non-parametriska metod som rekommenderas av IFCC användes för att beräkna referensområden för höga och låga värden.

Tabell 2 Serum PIIINP referensområde

	Vuxna
Antal patientprover	232
Medelvärde	3,7 µg/l
Referensområde*	2,3–6,4 µg/l
0,90-konfidensintervall	
för lågt referensområde	1,9–2,6 µg/l
för högt referensområde	5,5–6,7 µg/l

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

Referensområden för barn erhålls från friska barn i åldern 0 mån till 19 år (modifierat från Trivedi P et al. J Pediatr 1989; 114:225–230).

Tabell 3 Serum PIIINP referensområde för barn

Åldersgrupp	n (F)	Flickor (µg/l)	n (M)	Pojkar (µg/l)
1–3 månader	4	53,22 ± 10,87	5	62,05 ± 15,59
3–6 månader	5	31,25 ± 6,53	13	33,94 ± 9,35
6–9 månader	7	19,71 ± 3,53	4	18,14 ± 3,26
9–12 månader	3	19,88 ± 6,16	4	15,25 ± 4,65
1–2 år	9	13,45 ± 2,25	7	11,71 ± 4,30
2–3 år	10	9,85 ± 2,65	9	8,47 ± 2,53
3–10 år *)	63	7,75 ± 2,17	79	7,75 ± 2,18
10–11 år	7	8,02 ± 2,56	12	7,78 ± 1,61
11–12 år	12	11,23 ± 2,99	9	7,27 ± 2,15
12–13 år	5	10,85 – 3,77	6	8,96 ± 2,94
13–14 år	2	5,84 ± 2,86	4	13,25 ± 5,58
14–15 år	5	8,09 ± 1,57	2	12,92 ± 4,10
15–16 år	2	7,34 ± 0,11	7	15,42 ± 4,28
16–17 år	3	3,98 ± 0,99	–	–
17–18 år	4	4,07 ± 1,08	5	4,88 ± 1,06

*) ingen signifikant skillnad mellan 3–10 år

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.

Teknisk detektionsgräns

Ca 0,4 µg/l, definierat som två gånger standardavvikelsen av 0-bindningsvärdet.

Linjäritet

Linjäritet studerades genom utspädning av tre prover med serum och tre prover med 0,9% NaCl. Genomsnittligt utbyte av proverna var 102 % för 0,9 % NaCl och 100 % för serum.

Utbyte

Kända mängder PIIINP sattes till fyra serumprovpooler innehållande 2,9–4,5 pg / l PIIINP. Utbyte låg i intervallet 83–100 % med ett medelvärde på 93 %.

Precision och reproducerbarhet

En precisionsstudie utfördes i enlighet med Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) riktlinjer, EP5-A3.

Tabell 4 Repeterbarhet, mellan dag och inom laboratoriets precision (20 dagar)

Prov	Medel PIIINP (µg/l)	N	Repeterbarhet		Mellan dagen		Inom laboratoriet (Total)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Proovpool 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Proovpool 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Proovpool 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Proovpool 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

Interferenser

Serumbilirubin i koncentration < 400 µmol/l påverkar inte analysen. Serumhemoglobin i koncentration upp till 5 g/l påverkar inte analysen. Triglycerider upp till < 30 g/l interfererar inte.

Specificitet

Intakt UniQ PIIINP RIA kit är inte känsligt för de mindre nerbrytningsprodukter som återfinns i blod. Det mäter propeptiden och dess större molekylformer. UniQ PIIINP RIA korsreagerar ej med antigen använda i UniQ PINP RIA kit.

13. SPÅRBARHET

Analysten i UniQ PIIINP 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 bortscaffas enligt tillämpade lagar.
- Material i komponenterna:
 - Papper: Bruksanvisning
 - Kartong: Kitets förpackning
 - Plast: Flaskor för separationsreagenset, flasklock
 - 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® PIIINP RIA

Intakt N-terminal propeptid av type III procollagen, Radioimmunoassay kit

1. ANVENDELSE

UniQ PIIINP RIA er et kvantitativt radioimmunoassay for måling av intakt aminoterminal propeptid av type III procollagen konsentrasjonen i humant serum. **Kun for *in vitro* diagnostikk.**

2. OPPSUMMERING OG FORKLARING

Type III collagen stammer fra et større protein, type III procollagen, som har propeptid ekstensjoner i begge ender av molekylet. Noen av aminoterminal propeptidene frigjøres under syntesen og deponering av type III collagen, og andre bevares i molekylet som blir igjen på overflaten av collagen fibre. Tilstedeværelse av dette antigenet i serum kan stamme fra syntesen (inklusive sen prosessering) av ny type III collagen eller fra nedbrytningen av eksisterende type III collagen fibre.

Den videre metabolisme av PIIINP er ikke kjent i detaljer. Mindre nedbrytningsprodukter relatert til PIIINP finnes i serum og utskilles i urin. Antigener med større molekylvekt enn propeptidet finnes også i serum. Deres nøyaktige molekylære struktur er ikke kjent.

Forhøyet konsentrasjon av PIIINP er funnet i en rekke tilfeller hvor opphopning og/eller nedbrytning av bindevev foregår, f. eks. fibropoliferative-, hematologiske-, endokrinologiske- og maligne sykdommer. Derfor er forandringer i PIIINP ikke spesifikk for en bestemt sykdom, men reflekterer involveringen og den økede metabolisme av type III collagen.

Hos veksthemmede barn reflekteres responsen til terapi med veksthormoner gjennom en tidlig økning i serum PIIINP, noe som gir muligheten til å identifisere de som responderer på terapien.

Leverfibrose og cirrhose av varierende årsak øker serumkonsentrasjonen av PIIINP. PIIINP gir mulighet til en non-invasiv overvåking av methotrexat-behandling, dermed reduseres behovet for leverbiopsi. Hos pasienter med kronisk Hepatitt C med fremskreden fibrose er PIIINP et effektivt hjelpemiddel for oppfølging av endringer i fibrose i løpet av og etter antiviral terapi og det kan gi informasjon om prognosen til disse pasientene. Ved fibrose tilstander i lungene, som idiopatisk lungefibrose eller lunge-sarcoidose, kan serumnivået av PIIINP være normalt, men høye konsentrasjoner kan sees i bronkiaskyllevæske.

Serum PIIINP er forhøyet ved myeloproliferative sykdommer, spesielt under den aktive fase av myelofibrose. Ved polycytemi vera kan en høy PIIINP verdi indikere en omdannelse til myeloid metaplasi.

Øket serum PIIINP finnes ved en rekke maligne sykdommer, f. eks. i cancertyper som involverer leveren. Ved bryst-carcinom med benmetastaser kan forandringer i PIIINP brukes som indikator for terapierespons. Ved ovarie carcinom korrelerer forandringer i serum PIIINP med utviklingen av sykdommen.


Konsentrasjonen PIIINP i serum avspeiler tilhelingsprosessen etter myokardialt infarkt og kan forutsi funksjon og volumendring i venstre ventrikel. Det har også blitt vist at den korrelerer med arddannelse, dysfunksjon i venstre ventrikel og grad av sannsynlighet for å overleve. Økning i serum PIIINP i de fire påfølgende dagene etter infarkt er vist seg å være høyet hos pasienter med dårlig prognose. PIIINP-nivå kan gi informasjon om pasientens videre prognose.

3. TESTPRINCIPP

UniQ PIIINP RIA kit er basert på kompetitiv radioimmunoassay teknikk. En kjent mengde av merket PIIINP og en ukjent mengde av umerket PIIINP i prøven konkurrerer om det begrensede antall spesifikke bindingsplasser på antistoffet. Etter separering av fritt antigen, er mengden av merket PIIINP i prøverøret omvendt proporsjonalt med mengden av PIIINP i prøven. Konsentrasjonene i de ukjente prøvene leses av fra en standardkurve.

4. REAGENS

UniQ® PIIINP RIA, Cat. No. 68570

Komponent navn og opprinnelse	Symbol	 100	Stabilitet ved 2...8°C	
			Uåpnet	Åpnet
Tracer	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktivt < 200 kBq	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	5 uker
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	5 uker
Kalibrator ORIG HUM	CAL xxµg/l	7 x 0,5 ml	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	5 uker
Kontroll ORIG HUM	CONTROL	1,5 ml	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	5 uker etter rekonstituering
Procollagen Separasjonsreagens	REAG SEPAR	60 ml	Inntil utløpsdato angitt på etiketten	5 uker
Bruksanvisning				

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

Klargjøring av reagenser

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

La flasken få romtemperatur (18...25°C) før den åpnes. Rekonstituer kontrollen ved å tilsette 1,5 ml destillert vann til flasken. Kork flasken og vend forsiktig for å unngå at skumdannelse. La flasken stå i 30 min. 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.
- Alle 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 forurensete 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 åpnete reagenser.
- Ikke bland komponenter med forskjellig produksjonsnummer eller fra forskjellige tester.

6. PRØVETAKING OG 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.

Sterk lipemiske eller hemolytiske pasientprøver skal unngås.

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 (200 µl, 500 µl og 1,5 ml)
- Testrør (polypropylen eller polystyren)
- Absorberende papir
- Parafilm
- Vortex mikser
- Vannbad (Til 37 ±1°C)
- Dekanteringsstativ
- Sentrifuge (minst 2000 X 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 og prøvemateriale får romtemperatur (18...25°C) før bruk (minst 30 min. i romtemperatur).
2	Merk testrørene i duplikat for NSB (ikke-spesifikk binding), kalibratorer, kontroller, pasientprøver og total.
3	Pipetter 200 µl kalibrator, kontroll eller pasientprøve i egnede rør. Hvilken som helst av pasientprøvene pipetteres i NSB rørene.
4	Pipetter 200 µl tracer (rød) i alle rørene.
5	Pipetter 200 µl antiserum (blå) i alle rørene, men ikke i NSB og total. Pipetter 200 µl destillert vann i NSB rørene.
6	Bland alle rørene med en Vortex mikser, dekk med parafilm og inkuber i 2 timer ved 37 °C.
7	Bland separasjonsreagenset godt ved å vende flasken opp ned, og tilsett 500 µl til alle rørene unntatt totalen.
8	Bland rørene på Vortex mikser og inkuber i 30 minutter ved romtemperatur (18...25°C).
9	Sentrifuger alle rør unntatt totalen i 15 minutter ved 2000 x g. (minimum) ved 4...20°C (4°C anbefales).
10	Dekanter supernatanten, vend alle rørene opp ned samtidig 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 dekantering og tømming av rør kan gi dårlige replika og feil 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 og ukjent
Pipetter prøve		200	200	200
Pipetter tracer (rød)	200	200	200	200
Pipetter antiserum (blå)			200	200
Pipetter destillert vann		200		
Bland		x	x	x
Inkuber 2T/37°C		x	x	x
Pipetter separasjonsreagens		500	500	500
Bland		x	x	x
Inkuber 30 min./RT		x	x	x
Sentrifuger 15 min./2000 x g (4....20 °C)		x	x	x
Dekanter		x	x	x
Mål i 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 PIIINP RIA assay har en kontroll: PIIINP RIA Control. Forventet område til kontrollen 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.

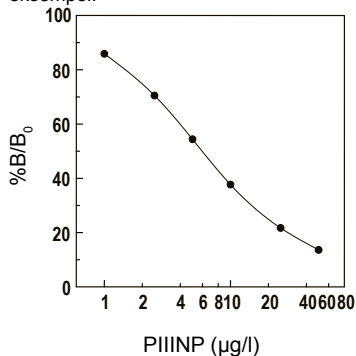
- **Beregn** middelverdien for alle kontroller, prøver og kalibratore.
- **Beregn** %B/B₀ fra:

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

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 PIIINP konsentrasjonen (µg/l) av kalibratorene på x-aksen.
- **Bestem** PIIINP-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 fortytning 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/B ₀	PIIINP (µg/l)
Total	48807			
NSB	679			
Kal 0	30976	30297		
Kal 1.0	26705	26026	85,9	
Kal 2.5	22047	21368	70,5	
Kal 5.0	17163	16484	54,4	
Kal 10	12100	11421	37,7	
Kal 25	7241	6562	21,7	
Kal 50	4795	4116	13,6	
Ukjent 1	17342	16663	55,0	4,9
Ukjent 2	8468	7789	25,7	19,0

10. PROSEDYREBEGRENSNINGER

Ved diagnostiske og terapeutiske beslutninger, må resultater av enhver diagnostisk test støttes av andre klinisk relevante data.

11. FORVENTEDE VERDIER

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

PIIINP verdier fra tilsynelatende friske voksne (19–65 år) er målt med UniQ PIIINP kitet. For å kalkulere referanseintervallet for den øvre og nedre grense er den IFCC anbefalte "non- parametriske metode" anvendt.

Tabell 2 Serum PIIINP referansegrenser

	Voksne
Antall	232
Middelverdi	3,7 µg/l
Referanseintervall*	2,3–6,4 µg/l
0,90 konfidensintervaller for nedre referanseintervall	1,9–2,6 µg/l
for øvre referanseintervall	5,5–6,7 µg/l

*Referanseintervall = 0,025 & 0,975 fraktiler

Referanseverdiene for barn (tabell 3) stammer fra en populasjon av friske barn i alderen 0 måneder til 19 år (utdrag fra Trivedi P et al. J Pediatr 1989; 114:225–230).

Tabell 3 Serum PIIINP referanseverdier for barn

Aldersgruppe	n (F)	Jenter ($\mu\text{g/l}$)	n (M)	Gutter ($\mu\text{g/l}$)
1–3 måneder	4	53,22 \pm 10,87	5	62,05 \pm 15,59
3–6 måneder	5	31,25 \pm 6,53	13	33,94 \pm 9,35
6–9 måneder	7	19,71 \pm 3,53	4	18,14 \pm 3,26
9–12 måneder	3	19,88 \pm 6,16	4	15,25 \pm 4,65
1–2 år	9	13,45 \pm 2,25	7	11,71 \pm 4,30
2–3 år	10	9,85 \pm 2,65	9	8,47 \pm 2,53
3–10 år *)	63	7,75 \pm 2,17	79	7,75 \pm 2,18
10–11 år	7	8,02 \pm 2,56	12	7,78 \pm 1,61
11–12 år	12	11,23 \pm 2,99	9	7,27 \pm 2,15
12–13 år	5	10,85 \pm 3,77	6	8,96 \pm 2,94
13–14 år	2	5,84 \pm 2,86	4	13,25 \pm 5,58
14–15 år	5	8,09 \pm 1,57	2	12,92 \pm 4,10
15–16 år	2	7,34 \pm 0,11	7	15,42 \pm 4,28
16–17 år	3	3,98 \pm 0,99	–	–
17–18 år	4	4,07 \pm 1,08	5	4,88 \pm 1,06

* ingen signifikante forandringer mellom 3–10 år

12. KARAKTERISKE EGENSKAPER

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

Måleområde

1,0–50 $\mu\text{g/l}$.

Deteksjonsgrense

Ca. 0,4 $\mu\text{g/l}$ definert som to ganger standarddivisjonen av 0-bindings verdien.

Linearitet

Lineariteten ble undersøkt ved å fortynde tre prøver med serum og tre prøver med 0,9 % NaCl. Gjennomsnitt recovery på prøvene var 102 % for 0,9 % NaCl, og 100 % for serum.

Utbytte

Kjent mengde av PIIINP ble tilsatt fire serumprøver som inneholdt 2,9–4,5 $\mu\text{g/l}$ PIIINP. Recoveries var i området 83–100 % med en middelværdi på 93 %.

Nøyaktighet og reproducerbarhet

En presisjonsstudie er utført i henhold til EP5-A3-retningslinjene fra Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Tabell 4 Repeterbarhet, mellomdager og innenfor laboratoriepresisjon (20 dager)

Prøve	Gjennomsnitt PIIINP (µg/l)	N	Repeterbarhet		Mellom dager		Innenfor laboratorie- presisjon(Total)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Serump prøve 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Serump prøve 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Serump prøve 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Serump prøve 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

Interferenser

Konsentrasjonen av serum bilirubin < 400 µmol/l interferer ikke. Konsentrasjon av serumhemoglobin på opp til 5 g/l interferer ikke. Triglycider opp til 30 g/l interferer ikke.

Spesifisitet

Intakt er ikke UniQ PIIINP RIA kitet sensitivt overfor mindre nedbrytningsprodukter som finnes i blodet. Det måler propeptidet og former med høyere molekylvekt. UniQ PIIINP RIA krysreagerer ikke med antigener brukt i UniQ PINP RIA kitet.

13. SPORBARHET

Analytten i UniQ PINP RIA Calibrators er laget fra produsentens in-house kalibratorene som prepareres fra rensede PINP 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® PIIINP RIA

Intakt N-terminal propeptid af type III procollagen, Radioimmunoassay kit

1. ANVENDELSE

UniQ PIIINP RIA er et kvantitativt radioimmunoassay til måling af intakt aminoterminal propeptid af type III procollagen koncentrationen i humant serum. **Til *in vitro* diagnostisk brug.**

2. BAGGRUND

Type III collagen er derivet af et større protein, type III procollagen, som har propeptidforlængelser i begge ender af molekylet. Nogle af de aminoterminal propeptider frigøres under syntese og aflejring af type III collagen, og nogle bindes i de molekyler, der forbliver på collagen fibrillernes overflade. Når dette antigen findes i serum, kan det således deriveres af syntesen (herunder sen behandling) af ny type III collagen eller ved nedbrydning af eksisterende III collagenfibriller.

PIIINP's videre metabolisme kendes ikke i detaljer. Mindre nedbrydningsprodukter, der er forbundet med PIIINP, findes i serum og udskilt i urin. Antigener med højere molekylvægt end propeptidet findes også i serum. Disses nøjagtige molekylærstruktur er ukendt.

Øgede koncentrationer af PIIINP findes i en række tilstande, hvor der foregår akkumulering og/eller nedbrydning af bindevæv, f.eks. ved fibroproliferative, hæmatologiske, endokrinologiske og maligne sygdomme. Ændringerne i PIIINP er derfor ikke sygdomsspecifikke, men afspejler type III collagens involvering og ændrede metabolisme.

Hos børn med vækstforstyrrelser afspejles reaktionen på behandling med væksthormon i en tidlig forøgelse af PIIINP i serum, hvorved det er muligt at identificere de børn, der reagerer på behandlingen.

Leverfibrose og -cirrose med forskellige ætiologier øger koncentrationen af PIIINP i serum. PIIINP er et middel til ikke-invasiv overvågning af psoriasispatienter behandlet med methotrexat og nedsætter derved behovet for leverbiopsier. Hos patienter med kronisk hepatitis C med fremskreden fibrose er PIIINP et nyttigt middel til opfølgning af fibrøse forandringer under og efter antivirusbehandling, og det kan give prognoseoplysninger om disse patienter. Ved fibrotiske lungesygdomme, f.eks. idiopatisk lungefibrose eller pulmonal sarkoidose, kan PIIINP-niveauerne i serum være normale, mens der kan forekomme høje koncentrationer i bronkoalveolær udskylningsvæske.

PIIINP i serum øges ved myeloproliferative sygdomme, navnlig i de aktive faser af myelofibrose. Ved polycythaemia vera kan en høj PIIINP-værdi forudsige transformation til myeloid metaplasi.

Der forekommer øgede PIIINP-niveauer i serum ved adskillige maligne sygdomme, f.eks. cancerformer, der involverer leveren. Ved brystcarcinomer med knoglemetastaser kan PIIINP være en indikator for reaktionen på behandling. Ved ovariecarcinomer korrelerer ændringer af PIIINP i serum med sygdommens udvikling.

Koncentrationen af PIIINP i serum afspejler helingsprocessen efter myokardieinfarkt og forudsiger ændringer i venstre ventrikels funktion og volumen. Den har også vist sig at korrelere med ardannelse, dysfunktion af venstre ventrikel samt overlevelsesrate. Forøgelsen af PIIINP i serum i løbet af de næste fire dage efter infarkt har vist sig at være højere hos patienter med dårlige resultater. Endvidere har PIIINP værdi som prognostisk indikator for død og indlæggelse.

3. ANALYSEPRINCIP

UniQ PIIINP RIA kit er baseret på kompetitativ radioimmunoassay teknik. En kendt mængde af mærket PIIINP og en ukendt mængde af umærket PIIINP i prøven konkurrerer om det begrænsede antal specifikke bindingssteder på antistoffet. Efter separering af det ubundne antigen vil mængden af mærket PIIINP i prøverøret, være omvendt proportional med mængden af PIIINP i prøven. Koncentrationerne i de ukendte prøver er fundet ud fra en kalibreringskurve.

4. REAGENS

UniQ® PIIINP RIA, varenummer 68570

Komponent navn og oprindelse	Symbol	Σ 100	Stabilitet ved 2...8°C	
			Uåbnet	Åbnet
Tracer	Ag ¹²⁵ I	22 ml Radioaktivt < 200 kBq	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	5 uger
Antiserum ORIG RAB	Ab	22 ml	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	5 uger
Kalibrator ORIG HUM	CAL xx µg/l	7 x 1,5 ml	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	5 uger
Kontrol ORIG HUM	CONTROL	1,5 ml	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	5 uger efter rekonstruering
Procollagen Separationsreagens	REAG SEPAR	60 ml	Indtil udløbsdato markeret på etiketten	5 uger
Brugsvejledning				

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

Forberedelse af reagens

Kontrollen er lyophiliseret. Alle andre reagenser er klar til brug.

Sørg for at kontrolflasken har stuetemperatur (18...25°C) før den åbnes. Tilsæt 1,5 ml destilleret vand til flasken. Luk flasken og ryst forsigtigt og undgå at det skummer. Før brug, skal flasken 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 reagensstabilitet. Brug ikke reagenser, hvis der er mistanke om forringet reagenskvalitet.

5. ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Oplysninger om sundhed og sikkerhed

- Kun til *in vitro* diagnostisk brug.
- Undlad at mundpipettere.
- Alle patientprøver og kontrollen 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). Kontrollen skal som en sikkerhedsforanstaltning håndteres, som om den 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. Ophopning af azider kan unngås ved å bruke rikelig med vann når reagensene tømtes ut.
- Rehydrerede reagenser og reagenser i væskeform indeholder natriumazid < 0,1 %, en koncentration som betragtes som ufarlig.
- Kittet indeholder ¹²⁵I (halveringstid T_{1/2} på 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 forurenede 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 eller hæmolytiske patientprøver skal undgås.

Prøvehåndtering og -opbevaring

Når prøven er udtaget, skal blodet størkne, og serum 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 PIIINP-koncentrationer kan fortyndes med 0,9 % saltvand.

7. PROCEDURE

Se kapitel 4 "Reagenser", for en liste over reagenser.

Nødvendige materialer, som ikke indgår i kittet

- Pipetter (200 µl, 500 µl og 1,5 µl)
- Reagensrør
- Absorberende underlag
- Paraffinfil
- Vortex mixer
- Vandbad (til 37 ±1°C)
- Dekanteringsstativ
- Centrifuge (mindst 2000 g)
- Gammatæller
- Destilleret vand

Instrumenter

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

Procedure detaljer

1	Sørg for at reagenser og prøvemateriale har nået stuetemperatur (18...25°C) før brug.
2	Marker reagensrørene dobbelt for NSB (ikke-specifik binding), kalibratorer, kontroller, patientprøver og total.
3	Pipetter 200 µl kalibrator, kontrol eller patientprøve i de beregnede reagensrør. Ligegyldigt hvilken af patientprøverne kan pipetteres i NSB rørene.
4	Pipetter 200 µl tracer (rød) i alle rørene.
5	Pipetter 200 µl antiserum (blå) i alle rørene udtagen i NSB og total. Pipetter 200 µl destilleret vand i NSB rørene.
6	Miks alle rørene med en Vortex mixer, dæk med paraffinfil og inkuber ved 37 ±1°C i 2 timer.
7	Miks separationsreagenset grundigt ved at vende glasset, og tilsæt 500 µl til alle rørene undtagen totalen.
8	Miks rørene med en Vortex mixer og inkuber i 30 minutter ved stuetemperatur (18...25°C).
9	Centrifuger alle rørene undtagen totalen i 15 minutter ved 2000 g (minimum) ved 4...20°C (4°C anbefales).
10	Dekanter supernatanten og bank forsigtigt munden af røret mod det absorberende underlag, undtagen totalen. Sørg for ikke at dekantere precipitatet. Vend ikke rørene når de har været vendt.
11	Mål hvert rør med en gammatæller 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 opgivet i µl)

	Total	NSB	Kalibrator	Kontrol og ukendt
Pipetter prøve		200	200	200
Pipetter tracer (rød)	200	200	200	200
Pipetter antiserum (blå)			200	200
Pipetter destilleret vand		200		
Miks		x	x	x
Inkuber 2T/37°C		x	x	x
Pipetter separationsreagens		500	500	500
Miks		x	x	x
Inkuber 30min./RT		x	x	x
Centrifuger 15min./2000g		x	x	x
Dekanter		x	x	x
Mål i 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 procedurens udførelse. UniQ PIIINP RIA assayet indeholder en kontrol materiale: UniQ PIIINP RIA Control. Det forventede område af kontrollen er anført på et separat ark, der følger med assayet. Det anbefales, at hvert laboratorium fastsætter dets egne acceptable områder for de kontroller, der anvendes i deres laboratorium. Kontrollens middelværdi skal ligge inden for det accepterede område, der er fastsat af Aidian. Det tilrådes at bruge mindst to forskellige kit lot-numre til at bestemme kontrollernes grænseområde. 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 kontroller, prøver og kalibratorer.
- **Beregn** %B/B₀ fra:

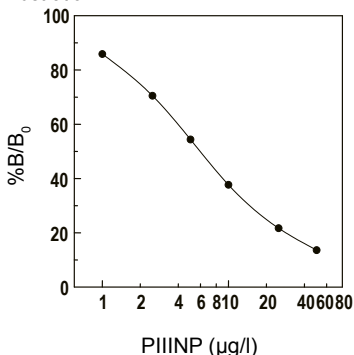
$$\%B/B_0 = \frac{\text{Kalibrator eller prøve counts} - \text{NSB}}{\text{0-kalibrator counts} - \text{NSB}} \times 100$$

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 (y) og PIIINP koncentrationer (µg/l) af kalibratorerne på abscissen (x).
- **Aflæs** PIIINP 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.



Tab.1 Beregning af resultater ved typiske data.

Disse data er kun til illustration og må ikke anvendes til beregning af noget prøveresultat.

Rør	MV cpm	cpm-NSB	%B/B ₀	PIIINP (µg/l)
Total	48807			
NSB	679			
Kal 0	30976	30297		
Kal 1.0	26705	26026	85,9	
Kal 2.5	22047	21368	70,5	
Kal 5.0	17163	16484	54,4	
Kal 10	12100	11421	37,7	
Kal 25	7241	6562	21,7	
Kal 50	4795	4116	13,6	
Ukendt 1	17342	16663	55,0	4,9
Ukendt 2	8468	7789	25,7	19,0

10. BEGRÆNSNINGER AF PROCEDUREN

Som basis for diagnostiske og terapeutiske beslutninger, bør der ved alle enkelt test resultater tages hensyn til 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.

PIIINP værdier fra formodentlige raske voksne (19–65 år) er målt med UniQ PIIINP kittet. Til at kalkulere referenceintervallet for den øvre og nedre grænse er den af IFCC anbefalede "non-parametriske metode" anvendt.

Tabel 2 Serum PIIINP referencegrænser

	Voksne
Antal	232
Middelværdi	3,7 µg/l
Referenceinterval*	2,3–6,4 µg/l
0,90 konfidensinterval for nedre referenceinterval	1,9–2,6 µg/l
for øvre referenceinterval	5,5–6,7 µg/l

*Referenceinterval = 0,025 & 0,975 fraktiler

Referenceværdierne for børn (tabel 3) stammer fra en population af raske børn i alderen 0 måneder til 19 år (uddrag fra Trivedi P et al. J Pediatr 1989; 114:225–230).

Tabel 3 Serum PIIINP referenceværdier for børn

Aldersgruppe	n (F)	Piger (µg/l)	n (M)	Drenge (µg/l)
1–3 måneder	4	53,22 ± 10,87	5	62,05 ± 15,59
3–6 måneder	5	31,25 ± 6,53	13	33,94 ± 9,35
6–9 måneder	7	19,71 ± 3,53	4	18,14 ± 3,26
9–12 måneder	3	19,88 ± 6,16	4	15,25 ± 4,65
1–2 år	9	13,45 ± 2,25	7	11,71 ± 4,30
2–3 år	10	9,85 ± 2,65	9	8,47 ± 2,53
3–10 år *)	63	7,75 ± 2,17	79	7,75 ± 2,18
10–11 år	7	8,02 ± 2,56	12	7,78 ± 1,61
11–12 år	12	11,23 ± 2,99	9	7,27 ± 2,15
12–13 år	5	10,85 – 3,77	6	8,96 ± 2,94
13–14 år	2	5,84 ± 2,86	4	13,25 ± 5,58
14–15 år	5	8,09 ± 1,57	2	12,92 ± 4,10
15–16 år	2	7,34 ± 0,11	7	15,42 ± 4,28
16–17 år	3	3,98 ± 0,99	–	–
17–18 år	4	4,07 ± 1,08	5	4,88 ± 1,06

* ingen signifikante forandringer mellem 3–10 år

12. KARAKTERISKE EGENSKABER

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

Måleområde

1,0–50 µg/l.

Teknisk detektionsgrænse

Ca. 0,4 µg/l defineret som to gange standardafvigelsen af 0-bindingsværdien.

Linearitet

Linearitet blev undersøgt ved fortynding af tre prøver med serum og tre prøver med 0,9 % NaCl. Den gennemsnitlige gengivning af prøverne var 102 % for 0,9 % NaCl og 100 % for serum.

Genvinding

En kendt mængde PIIINP blev tilsat fire serumprøve puljer indeholdende 2,9–4,5 µg/l PIIINP. Genvindingen var i intervallet 83–100 % med en middelværdi på 93 %.

Præcision og reproducerbarhed

En præcisionsundersøgelse blev udført i overensstemmelse med Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) retningslinjer EP5-A3.

Tabel 4 Reproducerbarhed mellem dage og inden for laboratorie præcision (20 dage)

Prøve	Gennemsnit PIIINP (µg/l)	N	Repetérbarhed		Mellem dag		Inden for laboratorie (Total)	
			SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)	SD (µg/l)	CV% (≤ 10%)
Serum pulje 1	2,81	80	0,11	4,1	0,13	4,7	0,18	6,3
Serum pulje 2	6,38	80	0,32	4,9	0,31	4,9	0,44	6,9
Serum pulje 3	6,64	80	0,29	4,4	0,22	3,3	0,37	5,5
Serum pulje 4	16,4	80	1,44	8,7	0,46	2,8	1,53	9,3

Interferenser

Serumbilirubin koncentration < 400 µmol/l interfererer ikke.

Serumhæmoglobin koncentrationer op til 5 g/l interfererer ikke. Triglycerid koncentrationer op til 30 g/l interfererer ikke.

Specifitet

Intakt UniQ PIIINP RIA kittet er ikke sensitivt overfor mindre nedbrydningsprodukter fundet i blodet. Det måler propeptidet og dets former med højere molekylvægt. UniQ PIIINP RIA krydsreagerer ikke med antigener brugt i UniQ PINP RIA kit.

13. SPORBARHED

Målestørrelsen (analytten) i UniQ PIIINP RIA kalibratorerne kan spores til producentens "master standarder", som er præpareret fra højt oprenset PIIINP, hvis værdi bestemmes ved at analysere sammensætningen af aminosyrer.

14. BORTSKAFFELSE

- Indholdet skal bortskaffes i henhold til national 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: Brugsvejledning
 - Karton: Kitæske
 - Plastic: Separationsreagensflasker, låg til flasker
 - Gummi: Stoppere
 - Glas: Tracer, antiserum, kalibratoren, kontrolflaske
 - Skumkummi
- Hvis god laboratoriepraksis, gode hygiejnestandarder og brugsvejledningen følges, bør de medfølgende reagenser ikke udgøre en sundhedsrisiko.

LITERATURE

- Alla F et al.** Early changes in serum markers of cardiac extra-cellular matrix turnover in patients with uncomplicated hypertension and type II diabetes. *Eur J Heart Fail* 2006;8:147-153.
- Chalmers RJG et al.** Replacement of routine liver biopsy by procollagen III aminopeptide for monitoring patients with psoriasis receiving long-term methotrexate: a multicentre audit and health economic analysis. *Br J Dermatol* 2005;152:444-450.
- Fontana RJ et al.** Serum fibrosis marker levels decrease after successful antiviral treatment in chronic hepatitis C patients with advanced fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:219-226.
- Host NB et al.** The aminoterminal propeptide of type III procollagen provides new information on prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1995;76:869-873.
- Lammi L et al.** Type III and type I procollagen markers in fibrosing alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:818-823.
- Longobardi S et al.** Growth hormone (GH) effects on bone and collagen turnover in healthy adults and its potential as a marker of GH abuse in sports: A double blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1505-1512.
- Martos R et al.** Diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction: improved accuracy with the use of markers of collagen turnover. *Eur J Heart Fail* 2009;11:191-197.
- Maurice PDL et al.** Monitoring patients on methotrexate: hepatic fibrosis not seen in patients with normal serum assays of aminoterminal peptide of type III procollagen. *Br J Dermatol* 2005;152:451-458.
- Poulsen S et al.** Relationship between serum amino-terminal propeptide of type III procollagen and changes of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Circulation* 2000;101:1527-1532.
- Risteli J et al.** Rapid equilibrium radioimmunoassay for the aminoterminal propeptide of human type III procollagen. *Clin Chem* 1988;34:715-718.
- Risteli L and Risteli J.** Analysing connective tissue metabolites in human serum. Biochemical, physiological and methodological aspects. *J Hepatol* 1995;22:77-81.
- Sartorio A et al.** Long-term monitoring of rec-GH treatment by serial determination of serum aminoterminal propeptide of type III procollagen in children and adults with GH deficiency. *J Endocrinol Invest* 1999;22:169-175.
- Satta J et al.** Increased turnover of collagen in abdominal aortic-aneurysms, demonstrated by measuring the concentration of the aminoterminal propeptide of type III procollagen in peripheral and aortic blood-samples. *J Vascular Surgery* 1995;22:155-160.
- Soylemezoglu O et al.** Urinary and serum type III collagen: markers of renal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:1883-1889.
- Tapanainen P et al.** Collagen metabolites in the prediction of response to GH therapy in short children. *Eur J Endocrinol* 1997;137:621-625.
- Trivedi P et al.** Growth velocity, growth hormone therapy, and serum concentrations of the amino-terminal propeptide of type III procollagen. *J Pediatr* 1989;114:225-230.
- Uusimaa P et al.** Collagen scar formation after acute myocardial infarction: Relationships to infarct size, left ventricular function, and coronary artery patency. *Circulation* 1997;96:2565-2572.
- Vihervuori E et al.** Collagen formation and degradation increase during growth hormone therapy in children. *Bone* 1997;20:133-138.
- Zachariae H et al.** The value of amino-terminal propeptide of type III procollagen in routine screening for methotrexate-induced liver fibrosis: a 10-year follow-up. *Br J Dermatol* 2001;143:100-103.
- Zannad F et al.** Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure. *Circulation* 2000;102:2700-2706.

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

