

MAGLUMI™ — N-терминальный пептид проколлагена III типа (ХЛИА)

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный комплект реагентов предназначен для проведения хемилюминесцентного иммуноанализа *in vitro* с целью количественного определения содержания N-терминального пептида проколлагена III типа (P1IIP N-P) в сыворотке крови человека с помощью автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI (включая модели Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000 и Maglumi 4000 Plus).

КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ

Фиброз печени является результатом чрезмерного осаждения внеклеточных матричных компонентов, а именно фибрилообразующего коллагена типа I и III. Фиброз и цирроз развиваются после хронической травмы по многим причинам, включая стойкие вирусные и гельминтозные инфекции, алкоголь, аутоиммунный гепатит и перенасыщение металлами. Ранние стадии фиброза являются обратимыми либо путем удаления специфического стимула, либо путем лечения антифибротическими препаратами, тогда как поздние стадии, прогрессирующие до цирроза, менее обратимы^{1,2}.

Коллаген является основной составной частью внеклеточного матрикса соединительной ткани и составляет около 30 % общего белка в организме. Коллаген III типа продуцируется главным образом в сетчатой соединительной ткани, паренхиматозных органах, сосудах и, в небольших количествах, в коже. Первоначально проколлаген III синтезируется клеткой и секретируется во внеклеточном пространстве. Затем пропептиды подвергаются расщеплению. Таким образом, количество расщепленного пропептида (проколлаген-III-пептид, P1IIP) является прямым показателем количества синтезированного и депонированного коллагена во внеклеточном пространстве. Хотя полученные в результате коллагеновые мономеры осаждаются в соединительной ткани в виде коллагеновых фибрилл, некоторые из пропептидов поступают в кровоток и поэтому могут быть обнаружены в сыворотке. Пептид P1IIP N-P представляет собой аминоконцевой пептид проколлагена III типа и продукт расщепления при превращении проколлагена III в коллаген III³.

Пептид P1IIP N-P является основной составляющей соединительной ткани. Его относительная концентрация в базальной мембране выше при фиброгенезе печени, и за ним следует увеличение уровня его сыворотки. При остром гепатите уровни P1IIP N-P в сыворотке крови коррелируют с уровнями аминотрансферазы. При хроническом заболевании печени содержание P1IIP N-P в сыворотке крови отражает стадию фиброза печени. Повышенные концентрации P1IIP в сыворотке обнаруживаются при алкогольном или вирусном фиброзе печени и циррозе^{4,6}. Повышенные уровни P1IIP встречаются при легочном фиброзе и болезни Педжета, хроническом полиартрите и коллагенозе^{7,9}.

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Анализ на P1IIP N-P представляет собой хемилюминесцентный иммунологический сэндвич-анализ.

Проба (либо, в соответствующих случаях, калибратор/контроль), моноклональные антитела к P1IIP N-P, меченые аминобутил-этил-изолюминолом (АВЕI), буфер и магнитные микрочастицы, покрытые другими моноклональными антителами к P1IIP N-P, тщательно перемешиваются и инкубируются при температуре 37 °С для формирования сэндвич-комплексов. После осаждения частиц в магнитном поле надосадочная жидкость фильтруется, а затем выполняется цикл промывки. После этого добавляются стартовые реагенты 1 и 2 для начала хемилюминесцентной реакции. Световой сигнал измеряется в течение трех секунд в относительных световых единицах (ОСЕ) при помощи фотоумножителя. Полученное количество ОСЕ пропорционально концентрации P1IIP N-P в пробе (либо, в соответствующих случаях, в калибраторе/контроле).

СОСТАВ КОМПЛЕКТА

Предоставляемые материалы

Компоненты	Состав	100 тестов (номер по каталогу: 130209002M)	50 тестов (номер по каталогу: 130609002M)
Магнитные микрочастицы	Магнитные микрочастицы, покрытые моноклональными антителами к P1IIP N-P, в буфере, содержащем БСА и NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл	2,0 мл
Калибратор низкой концентрации	Содержит БСА, антиген P1IIP N-P и NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл	2,0 мл
Калибратор высокой концентрации	Содержит БСА, антиген P1IIP N-P и NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл	2,0 мл
Буфер	Содержит БСА и NaN ₃ (<0,1 %).	6,5 мл	4,0 мл
Моноклональные антитела, меченые АВЕI	Моноклональные антитела к P1IIP N-P, меченые АВЕI, в буфере, содержащем БСА и NaN ₃ (<0,1 %).	6,5 мл	4,0 мл
Внутренний контроль качества	Содержит БСА, антиген P1IIP N-P и NaN ₃ (<0,1 %).	2,0 мл	2,0 мл

Все реагенты поставляются готовыми к использованию.

Необходимые дополнительные принадлежности, не входящие в комплект поставки

Анализаторы серии MAGLUMI:

Реакционный модуль	Номер по каталогу: 630003
Стартовые реагенты 1 и 2	Номер по каталогу: 130299004M
Промывочный концентрат	Номер по каталогу: 130299005M
Раствор для проверки светового сигнала	Номер по каталогу: 130299006M

Дополнительные принадлежности заказываются у компании Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) или ее официальных представителей.

КАЛИБРОВКА

Обеспечение отслеживаемости: данный анализ был стандартизован относительно внутреннего референсного стандарта компании SNIBE. Проверка калибраторов для определенных анализов позволяет получить значение ОСЕ для корректировки заданной основной кривой. Результаты определяются с помощью калибровочной кривой, которая выстраивается в процессе двухточечной калибровки, и основной калибровочной кривой (10 калибровок), считанной с метки для радиочастотной идентификации реагента (RFID-метка).

Повторную калибровку рекомендуется проводить в следующих случаях:

- Перед началом использования новой партии (реагентов для анализа или стартовых реагентов 1 и 2).
- Каждые 2 недели и/или перед началом использования нового комплекта реагентов (рекомендуется).
- После проведения необходимого обслуживания системы.
- При выходе контроля за рамки установленного диапазона ожидаемых значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Периодичность проведения процедур контроля качества установлена нормативными актами или аккредитационными требованиями. Внутренний контроль качества предназначен только для систем MAGLUMI. Инструкции по применению и целевые значения содержатся в **документе со сведениями о контроле качества хемилюминесцентного иммунологического анализа (ХЛИА) на РПП N-P**. При интерпретации результатов пользователь должен ориентироваться на собственные стандарты и знания.

Подробная информация о вводе значений для контроля качества содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

Для контроля работы системы и построения диаграмм трендов необходимо использовать имеющиеся на рынке материалы для контроля качества. Правила обращения с пробами для контроля качества аналогичны правилам, установленным для проб пациентов. Считается, что система функционирует удовлетворительно, если получаемые значения концентрации аналита находятся в пределах допустимого контрольного диапазона, установленного для системы, или в пределах диапазона, установленного конкретной лабораторией в соответствии с надлежащей внутренней схемой контроля качества. Результаты процедур контроля качества, выходящие за пределы диапазона ожидаемых значений или диапазона измерения, установленного конкретной лабораторией, не включаются в отчет. Выполните следующие действия:

- Убедитесь, что не истек срок годности материалов.
- Убедитесь, что выполнялось необходимое техническое обслуживание.
- Убедитесь, что анализ был выполнен в соответствии со всеми инструкциями.
- Выполните анализ повторно, используя свежие пробы для контроля качества.
- При необходимости обратитесь за помощью в местную службу технической поддержки или к официальному дистрибьютору компании.

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

- Используйте стандартные пробирки для проб или пробирки с разделительным гелем. Забор крови выполняется асептически с соблюдением универсальных мер предосторожности при венепункции.
- Центрифугирование выполняется только после полного образования тромба (сгустка крови) в образцах сыворотки. Некоторые образцы, особенно взятые у пациентов, получающих антикоагулянтную или тромболитическую терапию, могут демонстрировать повышенное время свертывания.
- При выполнении центрифугирования образцов до полного образования тромба возможно получение неверных результатов анализа из-за наличия фибрина. Пробы не должны содержать фибрин и другие твердые частицы.
- Не используйте гемолизированные образцы, а также образцы, содержащие твердые частицы или большое количество липидов либо демонстрирующие признаки микробного загрязнения. Проверьте все образцы на предмет наличия в них пузырьков воздуха и удаляйте пузырьки перед проведением анализа для получения оптимальных результатов.
- Избегайте повторного размораживания и замораживания образцов. Цикл заморозки-разморозки образцов сыворотки можно повторять только два раза. После размораживания образцы должны быть тщательно перемешаны.
- Если после центрифугирования проба покрылась липидным слоем, ее следует перенести в кювету для анализа или дополнительную пробирку. Необходимо следить за тем, чтобы при переносе очищенной пробы молекулы липидов не попали в кювету или пробирку.
- Анализ любых проб (контролей или образцов, взятых у пациентов) должен быть выполнен в течение 3 часов после загрузки пробы в систему MAGLUMI. За более подробной информацией о хранении проб в аппарате обращайтесь в сервисный центр компании SNIBE.
- После отделения разделительного геля, клеток крови или сгустков пробы можно хранить до 12 часов при температуре от 2 до 8 °C.
- В замороженном состоянии пробы можно хранить до 2 месяцев при температуре не выше -20 °C. После хранения пробы необходимо тщательно перемешать перед использованием (с помощью вортекса).
- Перед транспортировкой рекомендуется отделить образцы от разделительного геля, эритроцитов или образовавшихся сгустков. При транспортировке образцов упаковка и маркировка должны соответствовать требованиям национальных и международных нормативных документов, регулирующих транспортировку клинических образцов и инфицированных веществ. Образцы необходимо транспортировать в замороженном состоянии.
- Для проведения одного анализа на содержание РПП N-P требуется проба объемом 40 мкл.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

IVD

- Для диагностики *in vitro*.
- Следуйте всем инструкциям на вкладыше внутри упаковки. При несоблюдении любых инструкций на листке-вкладыше точность и надежность результатов анализа нельзя гарантировать.

Меры по обеспечению безопасности

- **ВНИМАНИЕ!** Использование этого продукта подразумевает выполнение определенных действий с образцами биологических материалов человека. Рекомендуется считать все биологические материалы человеческого происхождения потенциальными источниками инфекций и обращаться с ними в соответствии с требованиями раздела 29 Свода федеральных нормативных актов США (CFR), часть 1910.1030 «Occupational exposure to bloodborne pathogens» (Контакт с передающимися с кровью патогенными микроорганизмами на рабочем месте). При обращении с инфицированными или потенциально инфицированными материалами необходимо соблюдать меры по обеспечению 2-го уровня биологической безопасности или другие аналогичные процедуры по обеспечению безопасности.
- Все пробы, биологические реагенты и материалы, используемые для проведения этого анализа, должны считаться потенциально инфицированными материалами. Их утилизация должна осуществляться в соответствии с правилами, установленными в конкретном медицинском учреждении. Утилизация всех материалов должна осуществляться с соблюдением всех надлежащих процедур и мер безопасности в соответствии с действующими нормативными требованиями.
- Этот продукт содержит азид натрия. Утилизация содержимого и всех емкостей должна осуществляться с соблюдением всех соответствующих местных, региональных и национальных нормативных требований.
- Необходимая информация содержится в паспортах безопасности, которые предоставляются по запросу.

Меры предосторожности при работе с реагентами

- Не используйте комплект реагентов по истечении срока годности.
- Компоненты разных комплектов реагентов или реагенты из разных партий не являются взаимозаменяемыми.
- Перед первой загрузкой комплекта реагентов в систему реагенты необходимо перемешать для ресуспендирования магнитных частиц, осевших при транспортировке.
- Инструкции по смешиванию магнитных микрочастиц содержатся в разделе данного листка-вкладыша, посвященном подготовке реагентов.

- Во избежание загрязнения при работе с комплектами реагентов и пробами используйте чистые перчатки.
- Со временем при высыхании жидкости, попавшей на мембрану флакона, образуется налет. Обычно он представляет собой кристаллы солей и не влияет на эффективность анализа.
- Подробное описание мер предосторожности, которые необходимо соблюдать при эксплуатации системы, содержится в информации по обслуживанию, предоставляемой компанией SNIBE.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- До вскрытия упаковки: хранить при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.
- После вскрытия упаковки хранить при температуре от 2 до 8 °С: минимальный срок, в течение которого образец сохраняет стабильность, составляет 4 недели.
- Хранение в аппарате: минимальный срок, в течение которого образец сохраняет стабильность, составляет 4 недели.
- Для максимального сохранения свойств реагентов рекомендуется хранить открытые комплекты реагентов в холодильнике после завершения рабочего дня. Если контроли находятся в пределах диапазона ожидаемых значений, можно использовать комплекты реагентов после вскрытия упаковки или загрузки в систему по истечении установленных сроков.
- Храните реагенты в вертикальном положении, чтобы облегчить ресуспендирование магнитных микрочастиц.
- Не подвергайте воздействию прямых солнечных лучей.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Подготовка реагентов

- Ресуспендирование магнитных микрочастиц выполняется автоматически после успешной загрузки комплекта реагентов, что обеспечивает образование полностью гомогенной взвеси частиц до их использования.
- Для надлежащего выполнения анализов необходимо строго следовать инструкциям, изложенным в руководстве по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI. Каждый параметр исследования определяется с помощью RFID-метки, расположенной на комплекте реагентов. Дополнительная информация содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

РАЗВЕДЕНИЕ

Для этого комплекта реагентов не предусмотрено разведение проб с помощью анализатора.

Пробы, концентрация которых превышает верхний предел диапазона измерений, можно разводить вручную. После разведения вручную умножьте результат на коэффициент разбавления. Для ручного разведения необходимо использовать подходящие разбавители. При необходимости предварительно проконсультируйтесь со специалистами компании SNIBE.

Высокодозированный хук-эффект

При проведении анализа на PIIIIP N-P для образцов, содержащих PIIIIP N-P в концентрации до 20000 нг/мл, хук-эффект не наблюдался.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Для получения достоверных результатов анализа должны проводиться квалифицированными специалистами в точном соответствии с инструкциями.
- Заражение бактериями или термоинактивация проб может повлиять на результаты анализов.
- Результаты анализа, находящиеся в пределах диапазона ожидаемых значений, не исключают вероятности наличия заболевания, поэтому их следует интерпретировать с учетом результатов других диагностических процедур.
- Результаты анализов выражаются в количественном виде. Диагноз не должен быть основан на результате одного анализа — решение должно выноситься врачом с учетом всех имеющихся медицинских (клинических) данных.
- При принятии решений относительно лечения следует учитывать все обстоятельства конкретной ситуации.
- Анализ проб пациентов, содержащих человеческие антимышьиные антитела (НАМА), может давать ложно повышенные или ложно пониженные результаты. Несмотря на добавление веществ, нейтрализующих человеческие антимышьиные антитела (НАМА), очень высокая концентрация этих антител в сыворотке крови в некоторых случаях может повлиять на результаты анализов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вычисление результатов

Анализатор автоматически рассчитывает значение концентрации PIIIIP N-P в каждой пробе с помощью двухточечной основной калибровочной кривой, которая строится в процессе калибровки. Результаты выражаются в нг/мл. Дополнительная информация содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

Интерпретация результатов

Диапазон ожидаемых значений для анализа на PIIIIP N-P был получен путем исследования образцов, взятых у 115 практически здоровых жителей Китая, и включал следующее ожидаемое значение:

<30 нг/мл (95-й процентиль)

Различия между результатами, полученными в разных лабораториях, могут быть обусловлены различными характеристиками пациентов и используемыми методами анализа. Каждой лаборатории рекомендуется установить собственный диапазон ожидаемых значений.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прецизионность

Прецизионность анализа на PIIIIP N-P определялась в соответствии с процедурой, описанной в протоколе EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Три пула образцов сыворотки крови человека и один контрольный материал, содержащие аналит в разной концентрации, исследовались в двух параллельных независимых анализах ежедневно в течение 20 дней. Результаты в обобщенном виде представлены в таблице ниже.

Проба	Среднее значение (нг/мл) (N = 80)	В пределах серии		Между сериями		Всего	
		Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)	Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)	Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)
Пул образцов сыворотки крови 1	31,278	2,030	6,49	1,331	4,26	2,427	7,76
Пул образцов сыворотки крови 2	154,829	8,690	5,61	6,276	4,05	10,719	6,92
Пул образцов сыворотки крови 3	618,923	13,760	2,22	28,889	4,67	31,998	5,17
Контроль	255,816	11,389	4,45	12,428	4,86	16,858	6,59

Предел холостой пробы (LoB)

Предел холостой пробы для анализа на PIIIIP N-P составляет 0,5 нг/мл.

Предел обнаружения (LoD)

Предел обнаружения для анализа на PIIIIP N-P составляет 2,0 нг/мл.

Диапазон измерения

От 0,5 до 2000 нг/мл (определяется пределом холостой пробы и верхним пределом основной кривой). Значения ниже предела холостой пробы определяются как <0,5 нг/мл. Значения, превышающие верхний предел диапазона измерений, определяются как >2000 нг/мл.

Линейность

Линейный диапазон измерения для этого анализа составляет от 2,0 до 2000 нг/мл на основании исследования, выполненного в соответствии с протоколом EP6-A Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Девять проб с одинаковым распределением концентрации были получены путем смешивания образца сыворотки, содержащего PIIIIP N-P в концентрации 2100 нг/мл с образцом сыворотки, не содержащем PIIIIP N-P (0,0 нг/мл). Среднее значение степени извлечения пробы варьировалось от 90 до 110 %.

Сравнение методов

В общей сложности 100 проб в диапазоне от 1,792 до 702,033 нг/мл были протестированы с использованием анализа на PIIIIP N-P (y) и имеющегося на рынке иммуноанализа (x). Данные, полученные с помощью построенных линейных регрессий, можно представить в виде следующего уравнения: $y=0,958x+1,9197$. $r^2=0,9884$.

Аналитическая специфичность

Специфичность анализа определялась путем добавления CI (500 нг/мл) и CIII (1000 нг/мл) к двум образцам сыворотки в указанной концентрации. Не было выявлено интерференции.

Эндогенная интерференция

Наличие перечисленных ниже веществ в концентрации, не превышающей указанных значений, не влияет на результаты данного анализа:

- Билирубин 6 мг/дл
- Гемоглобин 16 мг/дл
- Триглицериды 1250 мг/дл

ЛИТЕРАТУРА

1. Friedman, S. L. (1993). The Cellular Basis of Hepatic Fibrosis--Mechanisms and Treatment Strategies. *New England Journal of Medicine*, 328(25), 1828-1835.
2. Rockey, D. C. (2005). Antifibrotic therapy in chronic liver disease. *Clinical gastroenterology and hepatology*, 3(2), 95-107.
3. Plebani, M., Basso, D., Roveroni, G., Paoli, M. D., Galeotti, F., & Corsini, A. (1997). N - terminal peptide of Type III procollagen. *Cancer*, 79(7), 1299-1303.
4. Torres-Salinas, M., Parés, A., Caballería, J., Jiménez, W., Heredia, D., Bruguera, M., & Rodés, J. (1986). Serum procollagen type III peptide as a marker of hepatic fibrogenesis in alcoholic hepatitis. *Gastroenterology*, 90(5), 1241-1246.
5. Trinchet, J. C., Hartmann, D. J., Pateron, D., Laarif, M., Callard, P., Ville, G., & Beaugrand, M. (1991). Serum type I collagen and N-terminal peptide of type III procollagen in chronic hepatitis: relationship to liver histology and conventional liver tests. *Journal of hepatology*, 12(2), 139-144.
6. Collazos, J., & Diaz, F. (1994). Role of the measurement of serum procollagen type III N-terminal peptide in the evaluation of liver diseases. *Clinica chimica acta*, 227(1-2), 37-43.
7. Chesnutt, A. N., Matthay, M. A., Tibayan, F. A., & Clark, J. G. (1997). Early detection of type III procollagen peptide in acute lung injury: pathogenetic and prognostic significance. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 156(3), 840-845.
8. Simon, L. S., Krane, S. M., Wortman, P. D., Krane, I. M., & Kovitz, K. L. (1984). Serum levels of type I and III procollagen fragments in Paget's disease of bone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 58(1), 110-120.
9. Hørslev - Petersen, K., Bentsen, K. D., Junker, P., & Lorenzen, I. B. (1986). Serum amino - terminal type III procollagen peptide in rheumatoid arthritis. Relationship to disease activity, treatment, and development of joint erosions. *Arthritis & Rheumatology*, 29(5), 592-599.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.16, Jinhui Road, Pingshan New District, Shenzhen, 518122, P.R. China (KHP)
Тел.: 0086-755-21536601 Факс: 0086-755-28292740



Lotus Global Co., Ltd.

1 Four Seasons Terrace, West Drayton, Middlesex London, UB7 9GG, United Kingdom
Тел.: 0044-20-75868010 Факс: 0044-20-79006187

РАСШИФРОВКА СИМВОЛОВ

	См. инструкцию по использованию		Производитель
	Допустимый температурный диапазон (температура хранения — от 2 до 8 °C)		Срок годности
	Содержимого достаточно для		Не подвергайте воздействию прямых солнечных лучей
	Этой стороной вверх		Официальный представитель в Европейском сообществе
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>		Состав комплекта
	Номер по каталогу		Код партии