



# **PIIIP-IRMA**

***OCFK07-PIIIP***



# History

## Summary of change:

Previous Version: 220408	Current Version: 220602																																																																
<p><b>E. Interferences</b> The presence of bilirubin at concentrations of up to 0.25 mg/mL, hemoglobin up to 20 g/L and triglycerides up to 20 g/L have no effect on the assay results. The immuno-assay is protected against heterophilic antibodies. However, we cannot guarantee that this protection is exhaustive.</p>	<p><b>E. Interferences</b> The presence of bilirubin at concentrations of up to 0.5 mg/mL, hemoglobin up to 20 mg/mL and triglycerides up to 25 mg/mL have no effect on the assay results. The immuno-assay is protected against heterophilic antibodies. However, we cannot guarantee that this protection is exhaustive.</p>																																																																
<p><b>C. Precision</b> This was evaluated using 2 samples assayed 20 times in the same series (Intra-Assay) and 3 samples assayed in 12 different runs (Inter-Assay).</p> <p style="text-align: center;">INTRA-ASSAY PRECISION                      INTER-ASSAY PRECISION</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Serum</th> <th>N</th> <th>Concent (U/ml)</th> <th>CV (%)</th> <th>Serum</th> <th>N</th> <th>Concent (U/ml)</th> <th>CV (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>20</td> <td>1.5</td> <td>3.0</td> <td>D</td> <td>12</td> <td>1.1</td> <td>2.6</td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>20</td> <td>7.7</td> <td>1.7</td> <td>E</td> <td>12</td> <td>1.9</td> <td>5.7</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>F</td> <td>12</td> <td>6.9</td> <td>6.5</td> </tr> </tbody> </table> <p>CV: Coefficient of variation</p>	Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)	Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)	A	20	1.5	3.0	D	12	1.1	2.6	B	20	7.7	1.7	E	12	1.9	5.7					F	12	6.9	6.5	<p><b>C. Precision</b> This was evaluated using 2 samples assayed 20 times in the same series (Intra-Assay) and 3 samples assayed in 12 different runs (Inter-Assay).</p> <p style="text-align: center;">INTRA-ASSAY PRECISION                      INTER-ASSAY PRECISION</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Serum</th> <th>N</th> <th>Concent (U/ml)</th> <th>CV (%)</th> <th>Serum</th> <th>N</th> <th>Concent (U/ml)</th> <th>CV (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>20</td> <td>1.5</td> <td>3.5</td> <td>D</td> <td>12</td> <td>1.1</td> <td>2.7</td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>20</td> <td>7.7</td> <td>7.5</td> <td>E</td> <td>12</td> <td>1.9</td> <td>6.0</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>F</td> <td>12</td> <td>6.9</td> <td>6.8</td> </tr> </tbody> </table> <p>CV: Coefficient of variation</p>	Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)	Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)	A	20	1.5	3.5	D	12	1.1	2.7	B	20	7.7	7.5	E	12	1.9	6.0					F	12	6.9	6.8
Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)	Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)																																																										
A	20	1.5	3.0	D	12	1.1	2.6																																																										
B	20	7.7	1.7	E	12	1.9	5.7																																																										
				F	12	6.9	6.5																																																										
Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)	Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)																																																										
A	20	1.5	3.5	D	12	1.1	2.7																																																										
B	20	7.7	7.5	E	12	1.9	6.0																																																										
				F	12	6.9	6.8																																																										

CE

en

Read entire protocol before use.

## PIIP-IRMA

### I. INTENDED USE

Radioimmunoassay for the *in vitro* quantitative measurement of procollagen III peptide (PIIP) in serum.

The kit is intended for professional use.

### II. GENERAL INFORMATION

- A. **Proprietary name :** DIAsource PIIP-IRMA Kit
- B. **Catalog number :** OCFK07-PIIP : 96 tests
- C. **Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

**For technical assistance or ordering information contact :**  
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

### III. CLINICAL BACKGROUND

#### A. Biological activity

Procollagen type III is synthesized in fibroblasts as a biosynthetic precursor of collagen type III, and then released. The propeptides are split off in the extracellular space during the conversion into collagen. The N-terminal propeptide col 1-3 (PIIP) is formed during this process in equimolar proportions to collagen type III and enters the circulation. The serum levels of N-terminal propeptide can therefore be used as a measurement of collagen III synthesis.

The procollagen III peptide col 1-3 (MW 45000) can be broken down by proteolysis into fractions col 1 (MW 10 000) which are not detected in the serum with DIAsource PIIP-IRMA Kit.

#### B. Clinical applications

The main collagens found in the connective tissue of the liver are types I and III, in addition to small amounts of type IV. If, as a result of pathological conditions, there is active proliferation of connective tissue (fibrosis) in the liver, increasing amounts of procollagen III peptide col 1-3 are formed.

The transformation of functioning liver tissue into connective tissue is detectable by means of the raised serum procollagen III peptide level. This is, for instance, the case in alcoholic or virus induced forms of liver fibrosis and cirrhosis. Raised procollagen III peptide levels can also occur with some other disorders and for this reason this parameter is particularly suitable for monitoring the course of

liver disorders.

Pathological conditions affecting the liver, which are associated with active proliferation of connective tissue, give rise to raised serum procollagen III peptide values. The actual transformation of functioning liver tissue into connective tissue can be detected by measuring procollagen III peptide in the serum.

According to the degree of severity of the disease, procollagen III peptide in the serum is raised in chronic active hepatitis (CAH), fibrosis and cirrhosis of the liver. Levels in chronic persistent hepatitis (CPH) are generally in the normal range; procollagen III peptide may be positively raised in degeneration of the liver. In acute hepatitis procollagen III peptide in the serum is also raised. There are, however, other conditions in which procollagen III peptide is raised without a detectable change in the liver (e.g. pulmonary fibrosis, rheumatic disorders, myocardial infarction, acromegaly, multiple trauma).

The diagnostic importance is not in the initial diagnosis but in monitoring the course of the disease. There is a good correlation with histological findings in fibrosis and cirrhosis.


#### IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

DIASource PIIP-IRMA Kit permits the in vitro determination of human procollagen III peptide in human serum (or plasma) using the principle of a 2-step sandwich assay. A complex of solid-phase anti-PIIP antibodies (monoclonal, mouse), procollagen III peptide in the sample and <sup>125</sup>I-labelled anti-PIIP antibodies (monoclonal, mouse) is formed during this process. At the end of the reaction the free tracer is removed by decanting (or aspiration) and subsequent washing.

The amount of tracer specifically bound to the coated test tubes is measured with a gamma scintillation counter.

Evaluation of the unknowns is carried out by reading off from a calibrator curve constructed under identical conditions.

#### V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 Tests Kit	Reconstitution			
 Tubes coated with anti-PIIP mouse monoclonal antibody.	2 x 48	<b>Ready</b> for use			
<table border="1" data-bbox="124 694 263 739"> <tr> <td>Ab</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> TRACER: anti-PIIP <sup>125</sup> I mouse monoclonal antibody, bovine gelatine, sodium azide	Ab	<sup>125</sup> I	1 vial 42 ml 315 kBq	<b>Ready</b> for use	
Ab	<sup>125</sup> I				
<table border="1" data-bbox="124 840 263 884"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Zero Calibrator in bovine albumine, PIIP of calf serum, sodium azide.	CAL	0	1 vial lyophil.	<b>Add 0.5 ml</b> distilled water	
CAL	0				
<table border="1" data-bbox="124 952 263 996"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Calibrators - N = 1 to 6 (see exact values on vial labels) in bovine albumine, PIIP of calf serum, sodium azide.	CAL	N	6 vials lyophil.	<b>Add 0.5 ml</b> distilled water	
CAL	N				
<table border="1" data-bbox="79 1108 319 1153"> <tr> <td>INC</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Incubation buffer : mouse monoclonal antibody, sodium azide	INC	BUF	1 vial 42 ml	<b>Ready</b> for use	
INC	BUF				
<table border="1" data-bbox="79 1232 319 1276"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Wash soln conc (NaCl, tween 20)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 40 ml	<b>Dilute</b> 20 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC			
<table border="1" data-bbox="79 1366 295 1411"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Controls - N = 1 or 2 In human serum, sodium azide.	CONTROL	N	2 vials lyophil.	<b>Add 0.5 ml</b> distilled water	
CONTROL	N				

**Note :** Use the incubation buffer for sera dilutions.

To obtain values expressed in weight quantities (µg/L), it is necessary to multiply the results with the DIASource PIIP-IRMA Kit (U/mL) by a factor of 8.

#### VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

1. Distilled water
2. Pipettes for delivery of: 20 µl, 400 µl and 500 µl (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
3. Vortex mixer
4. Magnetic stirrer
5. Tube shaker
6. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
7. Aspiration system (optional)
8. Any gamma counter capable of measuring <sup>125</sup>I may be used (minimal yield 70%).

#### VII. REAGENT PREPARATION

- A. Calibrators:** Reconstitute the calibrators with 0.5 ml distilled water.
- B. Controls:** Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- C. Working Wash solution:** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 19 volumes of distilled water to 1 volume of Washing Reagent (20x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

#### VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable at -20°C until the expiry date.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

#### IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

When blood samples have been taken, serum or plasma is obtained by the usual methods. The serum or plasma is used directly in the assay or stored for up to 3 days at 2-8°C. If they are to be stored for a longer period, a temperature of -20°C is recommended. The samples should be carefully mixed after thawing. Repeated thawing should be avoided.

PIIP values may be outside the measuring range in some patients suffering for example from alcoholic hepatitis and multiple trauma. In such cases it is advisable to dilute the patient's sample 1/5 with the incubation buffer.

The DIASource PIIP-IRMA Kit enables concentrations of 0.1 to 14 U/mL of PIIP to be measured.

For concentrations above 8 U / mL, it is recommended to dilute with the incubation buffer available into the kit.

#### X. PROCEDURE

##### A. Handling notes

Do not use the kit or components beyond expiry date.

Do not mix materials from different kit lots.

Bring all the reagents to room temperature prior to use.

Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling. Use a clean disposable pipette tip for addition of each different reagent and sample in order to avoid cross-contamination. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.

Respect the incubation times.

Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

##### B. Procedure

1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, sample and control. For determination of total counts, label 2 normal tubes.
2. Briefly vortex calibrators, samples, controls and dispense 20 µl of each into the respective tubes.
3. Dispense 400 µL incubation buffer into each test tube.
4. Shake the test tubes on a horizontal shaker for 2 hours at 18-25°C (300 rpm).
5. Aspirate
6. Dispense 1 mL wash buffer into each test tube, aspirate. Renew one time this operation.
7. Dispense 400 µL <sup>125</sup>I-anti-PIIP solution into each tube.
8. Shake on the horizontal shaker for 3 hours at 18-25°C (300 rpm).
9. Aspirate
10. Dispense 1 mL wash buffer into each test tube, aspirate. Renew one time this operation.
11. Measure the tubes for 1 minute on a gamma counter.

#### XI. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. Calculate the bound radioactivity as a percentage of the binding determined at the zero calibrator point (0) according to the following formula :

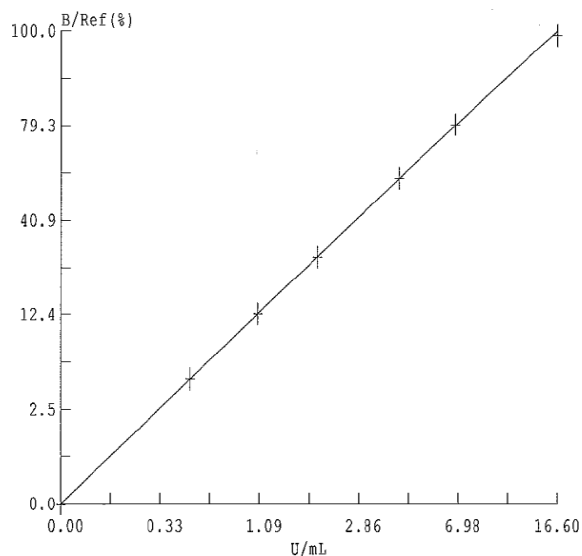
$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{Counts (Calibrator or sample)}}{\text{(Zero Calibrator)}} \times 100 \text{ Counts}$$

3. Plot the (B/B<sub>0</sub>(%)) values for each calibrator point as a function of the PIIP concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
4. Computer assisted methods can be used to construct the calibration curve. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.
5. By interpolation of the sample (B/B<sub>0</sub>(%)) values, determine the PIIP concentrations of the samples from the calibration curve.
6. For each assay, the percentage of total tracer bound in the absence of unlabelled PIIP (B<sub>0</sub>/T) must be checked.

### XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

PIIP	Cpm	Concentration (U/ml)
Calibrator 0	1010	0
Calibrator 1	5673	0.49
Calibrator 2	14379	1.07
Calibrator 3	30079	1.94
Calibrator 4	63531	4.13
Calibrator 5	85575	6.82
Calibrator 6	106620	16.6
Control 1	28030	1.82
Control 2	83616	6.53



### XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

#### A. Detection limit

The detection limit assessed by analytical method is defined as the smallest detectable concentration different from zero with a probability of 95%. It was measured below to 0.02 U / mL.

#### B. Specificity

The monoclonal antibodies used in the kit are specific for the N-terminal procollagen III peptide col 1-3. The possibility of a cross-reaction with other basal membrane proteins occurring in the concentration ranges that are physiologically relevant can be virtually ruled out.

#### C. Precision

This was evaluated using 2 samples assayed 20 times in the same series (Intra-Assay) and 3 samples assayed in 12 different runs (Inter-Assay).

##### INTRA-ASSAY PRECISION

##### INTER-ASSAY PRECISION

Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)	Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)
A	20	1.5	3.5	D	12	1.1	2.7
B	20	7.7	7.5	E	12	1.9	6.0
				F	12	6.9	6.8

CV: Coefficient of variation

#### D. Accuracy

Samples with high concentrations of PIIP were diluted. The recovery percentages obtained ranged from 69 to 103%.

Known quantities of PIIP were added to human sera. The recovery percentages from the samples ranged from 81 to 117%.

#### E. Interferences

The presence of bilirubin at concentrations of up to 0.5 mg/mL, hemoglobin up to 20 mg/mL and triglycerides up to 25 mg/mL have no effect on the assay results. The immuno-assay is protected against heterophilic antibodies. However, we cannot guarantee that this protection is exhaustive.

### XIV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises.

### XV. REFERENCE INTERVALS

The clinical trials were conducted in different centres on a collective of 158 healthy volunteers (both sex), over 20 years old. In addition of this adult study, a specific one for children and young people is done.

It is recommended that each laboratory establish its own normal values. The values given below are indicative.

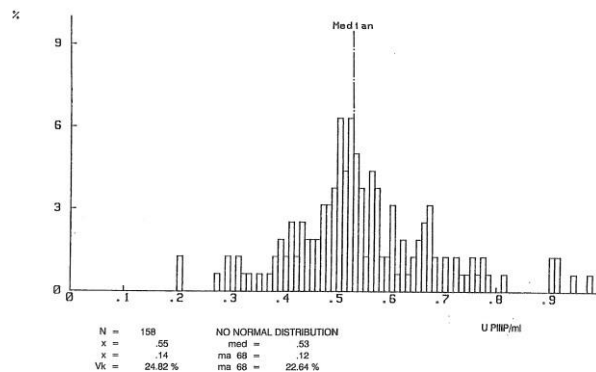
Adults normal values (Normal values: 0.3 – 0.8 U/mL)

Normale values	n	Mean U/mL	5. Perc. U/mL	95. Perc. U/mL	Min. U/mL	Max. U/mL
	158	0.53	0.33	0.79	0.21	0.98

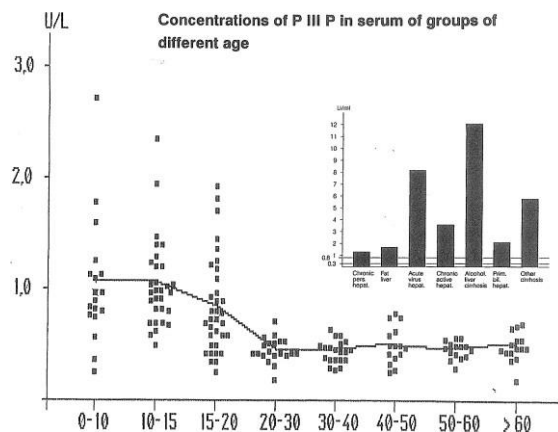
Children normal values

Age	n	Mean U/mL	5. Perc. U/mL	95. Perc. U/mL	Min. U/mL	Max. U/mL
0 - 10	19	0.98	0.34	6.1	0.29	9.4
10 - 15	30	1.0	0.64	1.7	0.52	2.4
15 - 20	34	0.76	0.37	1.8	0.29	1.95
> 20	158	0.53	0.33	0.79	0.21	0.98

#### NORMAL POPULATION



#### Concentrations of P III P in serum of groups of different age



## XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

### Safety

For *in vitro* diagnostic use only.

This radioactive product may only be received, purchased, stored or used by persons so authorized, and by laboratories covered by such authorization. The solution should under no circumstances be administered to humans or to animals. The purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the laws in force in the user's country. Enforcement of the basic radiation protection rules will ensure adequate security.

A summary of these is given below:

Radioactive products must be stored in their original containers in a suitable area. A record of the reception and storage of radioactive products must be kept up to date.

Handling of radioactive products should take place in a suitably equipped area with restricted access (controlled zone).

Do not eat, drink, smoke or apply cosmetics in a controlled zone. Do not mouth pipette radioactive solutions. Avoid any direct contact with all radioactive products by using laboratory coats and protective gloves. Contaminated laboratory equipment and glassware must be disposed of immediately after contamination to prevent cross contamination of different isotopes. Any contamination or radioactive substance loss should be dealt with in accordance with the established procedures. All radioactive waste disposal must be carried out according to the regulations in force.

The raw materials of human origin contained in the reagents of this kit have been tested with licensed kits and have been found to be negative for anti-HIV 1, anti-HIV 2 and anti-HCV antibodies and the HBs antigen. However, as it is still impossible to strictly guarantee that such products are incapable of transmitting hepatitis, the HIV virus or any other viral infection, all raw materials of human origin, including the samples to be assayed, must be treated as potentially infectious.

Do not pipette by mouth.

Do not smoke, eat or drink in areas in which samples or kit reagents are handled. Wear disposable gloves while handling kit reagents or samples and wash hands thoroughly afterwards.

Avoid splashing. Decontaminate and dispose of samples and all potentially contaminated materials as if they contained infectious agents. The best decontamination method is autoclaving for a minimum of one hour at 121.5°C. Some reagents contain sodium azide as a preservative. Avoid any absorption of the reagents, as well as any contact with the skin or mucous membranes. Sodium azide may react with lead or copper piping to form highly explosive metal azides. Dilute well when disposing of waste.

## XVII. BIBLIOGRAPHY

Collazos J, Diaz F. Role of the measurement of serum procollagen type III N-terminal peptide in the evaluation of liver diseases. Clin Chim Acta. 1994;227:37-43.

Heickendorff L, Frost L, Madsen JK, et al. Serum propeptides of type I and III procollagens in renal transplant recipients. A comparison of cyclosporine and azathioprine treatment. Nephron. 1994;67:203-8.

Hiramatsu N, Hayashi N, Kasahara A et al. Improvement of liver fibrosis in chorionic hepatitis C patients treated with natural interferon alpha. J Hepatol. 1995;22:135-42.

Jeffers LJ, Coelho-Little ME, Cheinquer H, et al. Procollagen-III peptide and chronic viral C hepatitis. Am J Gastroenterol. 1995;90:1437-40.

Klappacher G, Franzen P, Haab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. Am J Cardiol. 1995;75:913-8.

Plebani M, Burlina A. Biochemical markers of hepatic fibrosis. Clin Biochem. 1991;24:219-39.

Yamauchi M, Mizuhara Y, Maezawa Y, Toda G. Serum tenascin levels in chronic liver disease. Liver. 1994;14:148-53.

Yudoh K, Matsui H, Kanamori M, Ohmori K, Tsuji H, Tatezaki S. Serum levels of laminin, type IV collagen and type III procollagen peptide as markers for detection of metastasis. Jpn J Cancer Res. 1994;85:1263-9.

## XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µl	CALIBRATORS µl	SAMPLE (S) CONTROLS µl
Calibrators (0 to 6)	-	20	-
Samples, Controls	-	-	20
Incubation buffer	-	400	400
Incubation	2 hours at 18-25°C with continuous shaking (300 rpm)		
Separation		Aspirate	
Working Wash solution		1.0 ml	
Separation		Aspirate	
Working Wash solution		1.0 ml	
Separation		Aspirate	
Tracer	400	400	400
Incubation	3 hours at 18-25°C with continuous shaking (300 rpm)		
Separation		Aspirate	
Working Wash solution		1.0 ml	
Separation		Aspirate	
Working Wash solution		1.0 ml	
Separation		Aspirate	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

Other translations of this Instruction for Use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

DIAsource Catalogue Nr : OCFK07-PIIP	Revision nr : 220602
---	-------------------------

Revision date : 02/06/2022





fr

Lire l'intégralité du protocole avant utilisation.

# PIIP-IRMA

## I. UTILISATION PRÉVUE

Dosage radio-immunologique pour la mesure quantitative *in vitro* du procollagène III peptide (PIIP) dans le sérum.

La trousse est destinée à un usage professionnel.

## II. INFORMATIONS GÉNÉRALES

A. **Nom de spécialité :** DIAsource PIIP-IRMA

B. **Numéro de référence :** OCFK07-PIIP : 96 tests

C. **Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique.

**Pour une assistance technique ou des renseignements sur  
les commandes, contacter : Tél. : +32 (0)10 84.99.11  
Fax : +32 (0)10 84.99.91**

## III. CONTEXTE CLINIQUE

### A. Activités biologiques

Le procollagène de type III est synthétisé dans les fibroblastes comme précurseur biosynthétique du collagène de type III, puis libéré. Les propeptides sont séparés dans l'espace extracellulaire pendant la conversion en collagène. Le propeptide N-terminal col 1-3 (PIIP) est formé au cours de ce processus dans des proportions équimolaires au collagène de type III et pénètre dans la circulation. Les taux sériques du propeptide N-terminal peuvent donc être utilisés comme une mesure de la synthèse du collagène III.

Le peptide procollagène III col 1-3 (MW 45000) peut être dégradé par protéolyse en fractions col 1 (MW 10 000) qui ne sont pas détectées dans le sérum avec la trousse DIAsource PIIP-IRMA.

### B. Applications cliniques

Les principaux collagènes présents dans le tissu conjonctif du foie sont les types I et III, ainsi que de petites quantités de type IV. Si, à la suite de conditions pathologiques, il y a une prolifération active du tissu conjonctif (fibrose) dans le foie, des quantités croissantes de procollagène III peptide col 1-3 se forment.

La transformation du tissu hépatique fonctionnel en tissu conjonctif est détectable par la hausse du taux sérique de procollagène III peptide. C'est par exemple le cas dans les formes alcooliques ou virales de fibrose et de cirrhose du foie. Des taux élevés de procollagène III peptide peuvent également survenir

suite à d'autres troubles, c'est pourquoi ce paramètre est particulièrement approprié pour surveiller l'évolution des troubles hépatiques.

Les conditions pathologiques affectant le foie, qui sont associées à une prolifération active du tissu conjonctif, donnent lieu à des valeurs sériques élevées de procollagène III peptide. La transformation effective du tissu hépatique fonctionnel en tissu conjonctif peut être détectée en mesurant le procollagène III peptide dans le sérum. Selon le degré de gravité de la maladie, le procollagène III peptide dans le sérum est élevé dans l'hépatite chronique active (HCA), la fibrose et la cirrhose du foie. Les taux dans l'hépatite chronique persistante (HCP) se situent généralement dans la plage normale ; le procollagène III peptide peut être positivement élevé dans la dégénérescence du foie. Dans l'hépatite aiguë, le procollagène III peptide est également élevé dans le sérum. Il existe cependant d'autres pathologies dans lesquelles le procollagène III peptide est élevé sans changement détectable dans le foie (p. ex. fibrose pulmonaire, troubles rhumatismaux, infarctus du myocarde, acromégalie, traumatismes multiples).

L'importance diagnostique ne réside pas dans le diagnostic initial mais dans le suivi de l'évolution de la maladie. Il existe une bonne corrélation avec les résultats histologiques dans la fibrose et la cirrhose.


#### IV. PRINCIPES DE LA MÉTHODE

La trousse DIAsource PIIIP-IRMA permet la détermination in vitro du procollagène III peptide humain dans le sérum (ou le plasma) humain sur base de la technique sandwich en 2 étapes. Un complexe d'anticorps anti-PIIIP en phase solide (monoclonal murin), de procollagène III peptide dans l'échantillon et d'anticorps anti-PIIIP marqués à l'<sup>125</sup>I (monoclonal murin) se forme au cours de ce processus. À la fin de la réaction, le traceur libre est éliminé par décantation (ou aspiration) et lavage ultérieur.

La quantité de traceur spécifiquement lié aux tubes à essai enduits est mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation gamma.

L'évaluation des inconnues est effectuée par lecture d'une courbe d'étalonnage construite dans des conditions identiques.

#### V. RÉACTIFS FOURNIS

Réactifs	Trousse de 96 tests	Reconstitution			
 Tubes enduits d'un anticorps monoclonal murin anti-PIIIP.	2 x 48	Prêt à l'emploi			
<table border="1" data-bbox="119 694 263 750"><tr><td>Ab</td><td>125I</td></tr></table> TRACEUR : anticorps monoclonal murin anti-PIIIP marqué à l' <sup>125</sup> I, gélatine bovine, azoture de sodium	Ab	125I	1 flacon 42 ml 315 kBq	Prêt à l'emploi	
Ab	125I				
<table border="1" data-bbox="119 840 263 884"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Étalon zéro dans l'albumine bovine, PIIIP de sérum de veau, azoture de sodium.	CAL	0	1 flacon lyophil.	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée	
CAL	0				
<table border="1" data-bbox="119 963 263 1008"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Étalons - N = 1 à 6 (voir les valeurs exactes sur les étiquettes des flacons) dans l'albumine bovine, PIIIP de sérum de veau, azoture de sodium.	CAL	N	6 flacons lyophil.	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée	
CAL	N				
<table border="1" data-bbox="71 1131 319 1187"><tr><td>INC</td><td>BUF</td></tr></table> Tampon d'incubation : anticorps monoclonal murin, azoture de sodium	INC	BUF	1 flacon 42 ml	Prêt à l'emploi	
INC	BUF				
<table border="1" data-bbox="71 1254 311 1310"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Conc. sol. lavage (NaCl, tween 20)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 40 ml	Diluer 20 x avec de l'eau distillée (utiliser un mélangeur magnétique).
WASH	SOLN	CONC			
<table border="1" data-bbox="87 1388 295 1444"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Contrôles - N = 1 ou 2 Dans le sérum humain, azoture de sodium.	CONTROL	N	2 flacons lyophil.	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée	
CONTROL	N				

**Remarque :** utiliser le tampon d'incubation pour les dilutions de sérums. Pour obtenir des valeurs exprimées en quantités pondérales ( $\mu\text{g/l}$ ), il est nécessaire de multiplier les résultats obtenus avec la trousse DIAsource PIIIP-IRMA (U/ml) par un facteur 8.

#### VI. MATÉRIEL NON FOURNI

Le matériel mentionné ci-dessous est requis, mais non fourni avec la trousse :

- Eau distillée
- Pipettes pour : 20  $\mu\text{l}$ , 400  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$  et 500  $\mu\text{l}$  (l'utilisation de pipettes précises et d'embouts jetables en plastique est recommandée)
- Mélangeur vortex
- Mélangeur magnétique
- Agitateur de tubes
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour le lavage
- Système d'aspiration (facultatif)
- Il est possible d'utiliser tout compteur gamma capable de doser le <sup>125</sup>I (rendement minimal 70 %).

#### VII. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

- Étalons :** reconstituer les étalons avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Contrôles :** reconstituer les contrôles avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Solution de lavage de travail :** préparer un volume adéquat de solution de lavage de travail en ajoutant 19 volumes d'eau distillée à 1 volume de réactif

de lavage (20x). Utiliser un mélangeur magnétique pour homogénéiser. Jeter toute solution de lavage de travail non utilisée à la fin de la journée.

#### VIII. CONSERVATION ET DATES DE PÉREMPTION DES RÉACTIFS

- Avant ouverture ou reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à leur date d'expiration (mentionnée sur la notice) s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C.
- Après reconstitution, les étalons et les contrôles sont stables à -20°C jusqu'à la date d'expiration.  
Éviter tout cycle ultérieur de congélation-décongélation.
- La solution de lavage de travail doit être utilisée le jour où elle a été préparée.
- Après sa première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration s'il est conservé entre 2 et 8 °C dans le flacon d'origine bien fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

#### IX. COLLECTE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Lorsque des échantillons de sang ont été prélevés, le sérum ou le plasma est obtenu par les méthodes habituelles. Le sérum ou le plasma est utilisé directement dans le test ou conservé jusqu'à 3 jours entre 2 et 8 °C. S'ils doivent être conservés pendant une période plus longue, une température de -20 °C est recommandée. Les échantillons doivent être soigneusement mélangés après décongélation. Les décongélation répétées doivent être évitées.

Les valeurs de PIIIP peuvent se situer en dehors de la plage de mesure chez certains patients souffrant par exemple d'hépatite alcoolique et de traumatismes multiples. Dans de tels cas, il est conseillé de diluer l'échantillon du patient au 1/5 avec le tampon d'incubation.

La trousse DIAsource PIIIP-IRMA permet de mesurer des concentrations de 0,1 à 14 U/ml de PIIIP.

Pour les concentrations supérieures à 8 U/ml, il est recommandé de diluer avec le tampon d'incubation fourni dans la trousse.

#### X. PROCÉDURE

##### A. Remarques concernant la manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants au-delà de la date d'expiration. Ne pas mélanger de matériel provenant de trousses de lots différents.

Amener tous les réactifs à température ambiante avant utilisation.

Bien mélanger tous les réactifs et les échantillons en agitant ou en tournant doucement. Utiliser un embout de pipette jetable propre pour l'ajout de chaque réactif et échantillon différent afin d'éviter toute contamination croisée. De pipettes de grande précision ou un équipement de pipetage automatisé améliorent la précision.

Respecter les durées d'incubation.

Préparer une courbe d'étalonnage pour chaque passage ; ne pas utiliser les données de passages précédents.

##### B. Procédure

- Étiqueter les tubes enduits en double pour chaque étalon, échantillon et contrôle. Pour la détermination des comptages totaux, étiqueter 2 tubes normaux.
- Agiter brièvement au vortex les étalons, les échantillons, les contrôles et pipeter 20  $\mu\text{l}$  de chacun dans les tubes respectifs.
- Pipeter 400  $\mu\text{l}$  de tampon d'incubation dans chaque tube.
- Agiter les tubes à essai sur un agitateur horizontal pendant 2 heures à 18-25 °C (300 rpm).
- Aspirer
- Pipeter 1 ml de tampon de lavage dans chaque tube à essai, aspirer.  
Répéter une fois cette opération.
- Pipeter 400  $\mu\text{l}$  de solution anti-PIIIP marquée à l'<sup>125</sup>I dans chaque tube.
- Agiter sur l'agitateur horizontal pendant 3 heures à 18-25 °C (300 rpm).
- Aspirer
- Pipeter 1 ml de tampon de lavage dans chaque tube à essai, aspirer.  
Répéter une fois cette opération.
- Soumettre les tubes au dosage pendant 1 minute dans un compteur gamma.

#### XI. CALCUL DES RÉSULTATS

- Calculer la moyenne des déterminations réalisées en double.
- Calculer la radioactivité liée sous forme de pourcentage des liaisons déterminées au point de l'étalon zéro (0) en utilisant la formule suivante :

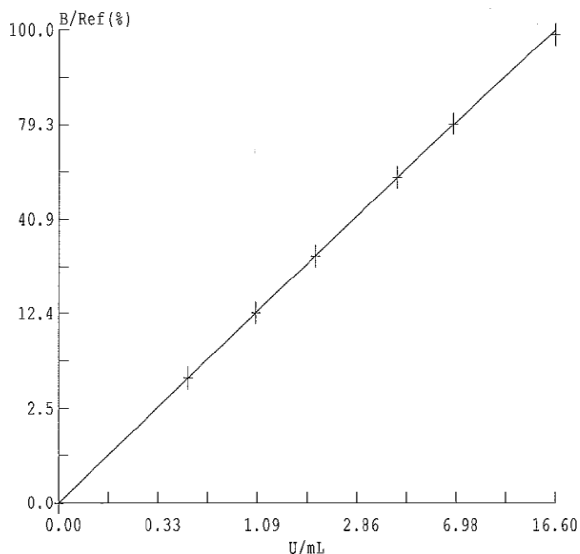
$$B/B0 (\%) = \frac{\text{Comptages (étalon ou échantillon)} \times 100}{\text{Comptages (étalon zéro)}}$$

- Indiquer les valeurs (B/B0[%]) pour chaque point de l'étalon en fonction de la concentration en PIIP de chaque point de l'étalon. Écarter les valeurs aberrantes.
- Des méthodes informatiques peuvent aussi être utilisées pour construire la courbe d'étalonnage. Si un système automatique de traitement des résultats est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.
- Déterminer les concentrations en PIIP des échantillons à partir de la courbe d'étalonnage, par interpolation des valeurs (B/B0 [%]) des échantillons.
- Pour chaque dosage, le pourcentage de traceur total lié en l'absence de PIIP non marqué (B0/T) doit être vérifié

## XII. DONNÉES TYPES

Les données suivantes sont fournies uniquement à titre d'illustration et ne devront jamais être utilisées à la place de la courbe d'étalonnage en temps réel.

PIIP	Cpm	Moyenne (U/ml)
Étalon 0	1010	0
Étalon 1	5673	0,49
Étalon 2	14379	1,07
Étalon 3	30079	1,94
Étalon 4	63531	4,13
Étalon 5	85575	6,82
Étalon 6	106620	16,6
Contrôle 1	28030	1,82
Contrôle 2	83616	6,53



## XIII. PERFORMANCE ET LIMITES

### A. Limite de détection

La limite de détection évaluée par la méthode analytique est définie comme la plus petite concentration détectable différente de zéro avec une probabilité de 95 %. Elle a été mesurée en dessous de 0,02 U/ml

### B. Spécificité

Les anticorps monoclonaux utilisés dans la trousse sont spécifiques au procollagène III peptide N-terminal col 1-3. La possibilité d'une réaction croisée avec d'autres protéines de la membrane basale présentes dans les gammes de concentration qui sont physiologiquement pertinentes peut être pratiquement exclue.

### C. Précision

Ceci a été évalué en utilisant 2 échantillons testés 20 fois dans la même série (intra-dosage) et 3 échantillons testés dans 12 séries différentes (inter-dosages).

## PRÉCISION INTRA-DOSAGE

## PRÉCISION INTER-DOSAGES

Sérum	N	Concent. (U/ml)	CV (%)	Sérum	N	Concent. (U/ml)	CV (%)
A	20	1,5	3,5	D	12	1,1	2,7
B	20	7,7	7,5	E	12	1,9	6,0
				F	12	6,9	6,8

CV : coefficient de variation

### D. Précision

Les échantillons présentant des concentrations élevées de PIIP ont été dilués. Les pourcentages de récupération obtenus allaient de 69 à 103 %. Des quantités connues de PIIP ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de récupération des échantillons allaient de 81 à 117 %.

### E. Interférences

La présence de bilirubine à des concentrations allant jusqu'à 0,5 mg/ml, d'hémoglobine jusqu'à 20 mg/ml et de triglycérides jusqu'à 25 mg/ml n'a aucun effet sur les résultats du test. Le dosage immunologique est protégé contre les anticorps hétérophiles. Cependant, nous ne pouvons pas garantir que cette protection est exhaustive.

## XIV. CONTRÔLE QUALITÉ INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le contrôle 1 et/ou le contrôle 2 ne sont pas dans l'intervalle spécifié sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l'on ait donné une explication satisfaisante de l'écart.
- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d'échantillons contrôles, lesquels doivent être congelés aliquotés.
- Les critères d'acceptation pour les écarts des valeurs en double des échantillons doivent être basés sur les bonnes pratiques de laboratoire.

## XV. INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Les essais cliniques ont été menés dans différents centres sur un collectif de 158 volontaires sains (des deux sexes), âgés de plus de 20 ans. En plus de cette étude pour adultes, une étude spécifique pour les enfants et les jeunes est réalisée. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs normales. Les valeurs indiquées ci-dessous sont indicatives.

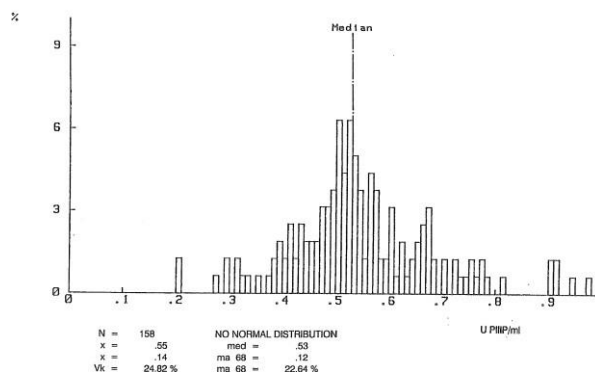
Valeurs normales chez l'adulte (valeurs normales : 0,3 à 0,8 U/ml)

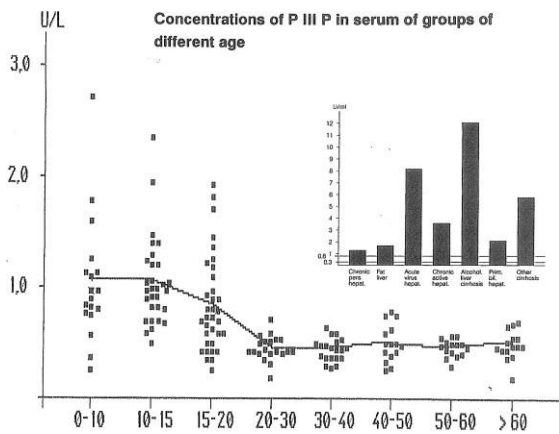
Valeurs normales	n	Moyenne U/ml	5. pourc. U/ml	95. pourc. U/ml	Min. U/ml	Max. U/ml
	158	0,53	0,33	0,79	0,21	0,98

Valeurs normales chez l'enfant

Âge	n	Moyenne U/ml	5. pourc. U/ml	95. pourc. U/ml	Min. U/ml	Max. U/ml
0 - 10	19	0,98	0,34	6,1	0,29	9,4
10 - 15	30	1,0	0,64	1,7	0,52	2,4
15 - 20	34	0,76	0,37	1,8	0,29	1,95
> 20	158	0,53	0,33	0,79	0,21	0,98

### NORMAL POPULATION





## XVI. PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

### Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées et par des laboratoires couverts par une telle autorisation. La solution ne doit en aucun cas être administrée à l'homme ou à l'animal. L'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis aux lois en vigueur dans le pays de l'utilisateur final. L'application des règles de base sur la radioprotection assurera une sécurité adéquate.

Un résumé de celles-ci est présenté ci-dessous :

Les produits radioactifs doivent être stockés dans leurs récipients d'origine dans un endroit approprié. Un registre de réception et de stockage des produits radioactifs doit être tenu à jour.

La manipulation des produits radioactifs doit se faire dans un endroit convenablement équipé et à accès restreint (zone contrôlée).

Ne pas manger, boire, fumer ou utiliser de produits cosmétiques dans une zone contrôlée. Ne pas pipeter à la bouche les solutions radioactives. Éviter tout contact direct avec tous les produits radioactifs en utilisant des blouses de laboratoire et des gants de protection. L'équipement de laboratoire et la verrerie doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes. Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être traitée conformément aux procédures établies. L'élimination de tous les déchets radioactifs doit être effectuée conformément à la réglementation en vigueur.

Les matières premières d'origine humaine contenues dans les réactifs de cette trousse ont été testées avec des trousse homologuées et se sont révélées négatives pour les anticorps anti-VIH 1, anti-VIH 2 et anti-VHC et l'antigène HBs. Cependant, comme il est encore impossible de garantir strictement que ces produits sont incapables de transmettre l'hépatite, le VIH ou toute autre infection virale, toutes les matières premières d'origine humaine, y compris les échantillons à doser, doivent être traitées comme potentiellement infectieuses.

Ne pas pipeter avec la bouche.

Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones où sont manipulés les échantillons ou les réactifs de la trousse. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs de la trousse ou des échantillons et se laver soigneusement les mains après.

Éviter les éclaboussures. Décontaminer et éliminer les échantillons et tous les matériaux potentiellement contaminés comme s'ils contenaient des agents infectieux. La meilleure méthode de décontamination est l'autoclavage pendant au moins une heure à 121,5 °C. Certains réactifs contiennent de l'azote de sodium en guise de conservateur. Éviter toute absorption des réactifs, ainsi que tout contact avec la peau ou les muqueuses. L'azote de sodium peut réagir avec des tuyaux en plomb ou en cuivre pour former des azotures métalliques hautement explosifs. Bien diluer lors de l'élimination des déchets.

## XVII. BIBLIOGRAPHY

Collazos J, Diaz F. Role of the measurement of serum procollagen type III N-terminal peptide in the evaluation of liver diseases. Clin Chim Acta. 1994;227:37-43.

Heickendorff L, Frost L, Madsen JK, et al. Serum propeptides of type I and III procollagens in renal transplant recipients. A comparison of cyclosporine and azathioprine treatment. Nephron. 1994;67:203-8.

Hiramatsu N, Hayashi N, Kasahara A et al. Improvement of liver fibrosis in chorioc hepatitis C patients treated with natural interferon alpha. J Hepatol. 1995;22:135-42.

Jeffers LJ, Coelho-Little ME, Cheinquer H, et al. Procollagen-III peptide and chronic viral C hepatitis. Am J Gastroenterol. 1995;90:1437-40.

Klappacher G, Franzen P, Haab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. Am J Cardiol. 1995;75:913-8.

Plebani M, Burlina A. Biochemical markers of hepatic fibrosis. Clin Biochem. 1991;24:219-39.

Yamauchi M, Mizuhara Y, Maezawa Y, Toda G. Serum tenascin levels in chronic liver disease. Liver. 1994;14:148-53.

Yudoh K, Matsui H, Kanamori M, Ohmori K, Tsuji H, Tatezaki S. Serum levels of laminin, type IV collagen and type III procollagen peptide as markers for detection of metastasis. Jpn J Cancer Res. 1994;85:1263-9.

## XVIII. RÉSUMÉ DU PROTOCOLE

	COMPT AGES TOTAUX µl	ÉTALONS µl	CONTRÔLE S ÉCHANTIL LON(S) µl
Étalons (0 à 6) Échantillons, contrôles Tampon d'incubation	- - -	20 - 400	- 20 400
Incubation	2 heures entre 18 et 25 °C en agitant en continu (à 300 rpm)		
Séparation Solution de lavage de travail Séparation Solution de lavage de travail Séparation	Aspirer 1,0 ml Aspirer 1,0 ml Aspirer		
Traceur	400	400	400
Incubation	3 heures entre 18 et 25 °C en agitant en continu (à 300 rpm)		
Séparation Solution de lavage de travail Séparation Solution de lavage de travail Séparation	Aspirer 1,0 ml Aspirer 1,0 ml Aspirer		
Comptage	Compter les tubes pendant 60 secondes		

D'autres traductions de cette notice peuvent être téléchargées de notre site

Internet : <https://www.diasource-diagnostics.com/>

Numéro de référence DIASource : OCFK07-PIIP	N° de révision : 220602
--	----------------------------

Date de la révision : 02/06/2022

CE

nl

Lees voor gebruik het volledige protocol.

## PIIP-IRMA

### **I. BEDOELD GEBRUIK**

Radioimmunoassay voor de *in vitro* kwantitatieve meting van procollageen III-peptide (PIIP) in serum.

De kit is bedoeld voor professioneel gebruik.

### **II. ALGEMENE INFORMATIE**

- A. Eigendomsnaam :** DIAsource PIIP-IRMA Kit
- B. Catalogusnummer :** OCFK07-PIIP : 96 tests
- C. Gefabriceerd door :** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

**Neem voor technische assistentie of bestelinformatie**

**contact op met :**

**Tel : +32 (0)10 84.99.11**

**Fax : +32 (0)10 84.99.91**

### **III. KLINISCHE ACHTERGROND**

#### **A. Biologische activiteit**

Procollageen type III wordt gesynthetiseerd in fibroblasten als een biosynthetische voorloper van collageen type III en vervolgens vrijgegeven. De propeptiden worden in de extracellulaire ruimte afgesplitst tijdens de omzetting in collageen. Het N-terminale propeptide col 1-3 (PIIP) wordt tijdens dit proces gevormd in equimolaire verhoudingen tot collageen type III en komt in de bloedsomloop. De serumniveaus van N-terminaal propeptide kunnen daarom worden gebruikt als een meting van collageen III-synthese.

Het procollageen III-peptide col 1-3 (MW 45000) kan door proteolyse worden afgebroken tot fracties col 1 (MW 10 000) die niet worden gedetecteerd in het serum met DIAsource PIIP-IRMA Kit.

#### **B. Klinische toepassingen**

De belangrijkste collagenen die in het bindweefsel van de lever worden aangetroffen, zijn de types I en III, naast kleine hoeveelheden type IV. Als er als gevolg van pathologische aandoeningen sprake is van actieve proliferatie van bindweefsel (fibrose) in de lever, worden toenemende hoeveelheden procollageen III peptide col 1-3 gevormd.

De transformatie van functionerend leverweefsel in bindweefsel is detecteerbaar door middel van het

verhoogde procollageen III-peptideniveau in het serum. Dit is bijvoorbeeld het geval bij alcoholische of virusgeïnduceerde vormen van leverfibrose en -cirrose. Verhoogde procollageen III-peptideniveaus kunnen ook optreden bij sommige andere aandoeningen en om deze reden is deze parameter bijzonder geschikt om het verloop van leveraandoeningen te volgen.

Pathologische aandoeningen van de lever, die gepaard gaan met actieve proliferatie van bindweefsel, zorgen voor verhoogde procollageen III-peptidewaarden in het serum. De daadwerkelijke transformatie van functionerend leverweefsel tot bindweefsel kan worden gedetecteerd door procollageen III-peptide in het serum te meten.

Afhankelijk van de ernst van de ziekte, is procollageen III-peptide in het serum verhoogd bij chronische actieve hepatitis (CAH), fibrose en cirrose van de lever. Niveaus bij chronische persisterende hepatitis (CPH) liggen over het algemeen binnen het normale bereik; procollageen III-peptide kan positief verhoogd zijn bij degeneratie van de lever. Bij acute hepatitis is het procollageen III-peptide in het serum ook verhoogd. Er zijn echter andere aandoeningen waarbij procollageen III-peptide verhoogd is zonder een waarneembare verandering in de lever (bijv. longfibrose, reumatische aandoeningen, myocardinfarct, acromegalie, meervoudig trauma).

Het diagnostische belang zit niet in de initiële diagnose, maar in het volgen van het verloop van de ziekte. Er is een goede correlatie met histologische bevindingen bij fibrose en cirrose.

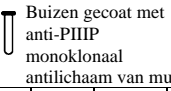
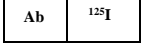
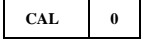
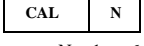
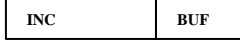


#### IV. PRINCIPES VAN DE METHODE

DIASource PIIP-IRMA Kit maakt de in vitro bepaling mogelijk van menselijk procollageen III-peptide in menselijk serum (of plasma) met behulp van het principe van een 2-staps sandwich-assay. Tijdens dit proces wordt een complex van vaste-fase anti-PIIP-antilichamen (monoklonaal, muis), procollageen III-peptide in het monster en <sup>125</sup>I-gelabelde anti-PIIP-antilichamen (monoklonaal, muis) gevormd. Aan het einde van de reactie wordt de vrije tracer verwijderd door te decanteren (of aspireren) en vervolgens te wassen.

De hoeveelheid specifiek aan de gecoatte reageerbuisjes gebonden tracer wordt gemeten met een gamma-scintillatieteller.

Evaluatie van de onbekenden wordt uitgevoerd door het aflezen van een kalibratorcurve die onder identieke omstandigheden is geconstrueerd.

#### V. VERSTREKTE REAGENTIA

Reagentia	Kit voor 96 tests	Reconstitutie
	2 x 48	<b>Klaar</b> voor gebruik
 TRACER: anti-PIIP <sup>125</sup> I monoklonaal antilichaam van muis, rundergelatine, natriumazide	1 flacon 42 ml 315 kBq	<b>Klaar</b> voor gebruik
 Nulkalibrator in runderalbumine, PIIP van kalfsserum, natriumazide.	1 flacon lyofiel.	<b>Voeg</b> 0,5 ml gedestilleerd water toe
 Kalibrators - N = 1 tot 6 (zie exacte waarden op flaconetiketten) in runderalbumine, PIIP van kalfsserum, natriumazide.	6 flacons lyofiel.	<b>Voeg</b> 0,5 ml gedestilleerd water toe
 Incubatiebuffer: monoklonaal antilichaam van muis, natriumazide	1 flacon 42 ml	<b>Klaar</b> voor gebruik
 Wasoplossing conc (NaCl, tussen 20)	1 flacon 40 ml	<b>Verdun</b> 20 x met gedestilleerd water (gebruik een magneetroerder).
 Controles - N = 1 of 2 In menselijk serum, natriumazide.	2 flacons lyofiel.	<b>Voeg</b> 0,5 ml gedestilleerd water toe

**Opmerking :** Gebruik de incubatiebuffer voor serumverduunningen.

Om in gewichtshoeveelheden (µg/L) uitgedrukte waarden te verkrijgen, is het noodzakelijk om de resultaten met de DIASource PIIP-IRMA Kit (U/mL) te vermenigvuldigen met een factor 8.

#### VI. NIET VERSTREKTE BENODIGDHEDEN

Het volgende materiaal is vereist maar wordt niet geleverd met de kit:

1. Gedestilleerd water
2. Pipetten voor afgifte van: 20 µl, 400 µl en 500 µl (het gebruik van nauwkeurige pipetten met kunststof wegwerptips wordt aanbevolen)
3. Vortex-menger
4. Magnetische roerder
5. Buisschudder
6. Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) om te wassen
7. Aspiratiesysteem (optioneel)
8. Om het even welke gammateller die <sup>125</sup>I kan meten mag worden gebruikt (minimale opbrengst 70%).

#### VII. BEREIDING VAN REAGENTIA

- A. Kalibrators:** Reconstitueer de kalibrators met 0,5 ml gedestilleerd water.
- B. Controles:** Reconstitueer de controles met 0,5 ml gedestilleerd water.
- C. Working Wash-oplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid Working Wash-oplossing door 19 volumes gedestilleerd water toe te voegen aan 1

volume Washing Reagent (20x). Gebruik een magnetische roerder om te homogeniseren. Gooi ongebruikte Working Wash-oplossing aan het einde van de dag weg.

#### VIII. OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA

- Voor opening of reconstitutie zijn alle bestanddelen van de kits stabiel tot de op het etiket vermelde vervaldatum, indien bewaard bij 2 tot 8°C.
- Na reconstitutie zijn kalibrators en controles stabiel bij -20°C tot de vervaldatum.  
Vermijd opeenvolgende vries-dooicycli.
- Vers bereide Working Wash-oplossing moet dezelfde dag nog worden gebruikt.
- Na het eerste gebruik is de tracer stabiel tot de vervaldatum, indien bewaard in de originele, goed gesloten flacon bij 2 tot 8°C.
- Veranderingen in het fysieke uiterlijk van kitreagentia kunnen wijzen op instabiliteit of verslechtering.

#### IX. SPECIMENVERZAMELING EN VOORBEREIDING

Wanneer bloedmonsters zijn genomen, wordt serum of plasma op de gebruikelijke manieren verkregen. Het serum of plasma wordt direct in de assay gebruikt of maximaal 3 dagen bewaard bij 2-8°C. Als ze voor een langere periode moeten worden bewaard, wordt een temperatuur van -20°C aanbevolen. De monsters moeten na ontdooien zorgvuldig worden gemengd. Herhaaldelijk ontdooien moet worden vermeden.

PIIP-waarden kunnen buiten het meetbereik liggen bij sommige patiënten die bijvoorbeeld lijden aan alcoholische hepatitis en meervoudig trauma. In dergelijke gevallen is het raadzaam om het monster van de patiënt 1/5 te verdunnen met de incubatiebuffer.

Met de DIASource PIIP-IRMA Kit kunnen concentraties van 0,1 tot 14 U/mL PIIP worden gemeten.

Voor concentraties boven 8 U/mL wordt aanbevolen om te verdunnen met de incubatiebuffer die beschikbaar is in de kit.

#### X. PROCEDURE

##### A. Opmerkingen over het gebruik

Gebruik de kit of onderdelen ervan niet na de vervaldatum.

Meng geen materialen van verschillende kitlots.

Breng alle reagentia op kamertemperatuur vóór gebruik.

Meng alle reagentia en monsters grondig door zachtjes te schudden of te zwenken. Gebruik een schone wegwerppipetpunt voor de toevoeging van elk verschillend reagens en monster om kruisbesmetting te voorkomen. Zeer nauwkeurige pipetten of geautomatiseerde pipetteapparatuur verbeteren de nauwkeurigheid.

Respecteer de incubatietijden.

Maak een kalibratiecurve voor elke run, gebruik geen gegevens van eerdere runs.

##### B. Procedure

1. Label gecoatte buizen in tweevoud voor elke kalibrator, monster en controle. Label 2 normale buizen voor het bepalen van het totale aantal tellingen.
2. Vortex kalibrators, monsters, controles kort en doseer 20 µl van elk in de respectieve buizen.
3. Doseer 400 µL incubatiebuffer in elke reageerbuis.
4. Schud de reageerbuisen op een horizontale schudder gedurende 2 uur bij 18-25°C (300 rpm).
5. Aspireer
6. Doseer 1 mL wasbuffer in elke reageerbuis, aspireer. Herhaal deze handeling één keer.
7. Doseer 400 µL <sup>125</sup>I-anti-PIIP-oplossing in elke buis.
8. Schud op de horizontale schudder gedurende 3 uur bij 18-25°C (300 rpm).
9. Aspireer
10. Doseer 1 mL wasbuffer in elke reageerbuis, aspireer. Herhaal deze handeling één keer.
11. Meet de buisjes gedurende 1 minuut op een gammateller.

#### XI. BEREKENING VAN RESULTATEN

1. Bereken het gemiddelde van dubbele bepalingen.
2. Bereken de gebonden radioactiviteit als percentage van de op het nulkalibratorpunt (0) bepaalde binding volgens de volgende formule:

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{Tellingen (Kalibrator of monster)}}{\text{Tellingen (Nulkalibrator)}} \times 100$$

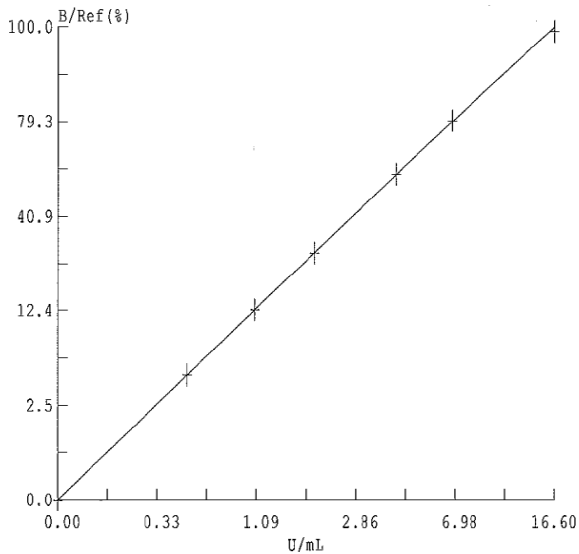


- Plot de (B/B0(%))-waarden voor elk kalibratorpunt als functie van de PIIP-concentratie van elk kalibratorpunt. Verwerp duidelijke uitschieters.
- Computerondersteunde methoden kunnen worden gebruikt om de kalibratiecurve te construeren. Als automatische resultaatverwerking wordt gebruikt, wordt een logistische functiecurvefitting met 4 parameters aanbevolen.
- Bepaal door interpolatie van de monsterwaarden (B/B0 (%)) de PIIP-concentraties van de monsters uit de kalibratiecurve.
- Voor elke assay moet het percentage van de totale hoeveelheid in afwezigheid van ongelabelde PIIP (B0/T) gebonden tracer worden gecontroleerd.

## XII. TYPISCHE GEGEVENS

De volgende gegevens zijn enkel ter illustratie en mogen nooit worden gebruikt in plaats van de realtime kalibratiecurve.

PIIP	Cpm	Concentratie (U/ml)
Kalibrator 0	1010	0
Kalibrator 1	5673	0.49
Kalibrator 2	14379	1.07
Kalibrator 3	30079	1.94
Kalibrator 4	63531	4.13
Kalibrator 5	85575	6.82
Kalibrator 6	106620	16.6
Controle 1	28030	1.82
Controle 2	83616	6.53



## XIII. PRESTATIES EN BEPERKINGEN

### A. Detectiegrens

De met de analytische methode bepaalde detectiegrens wordt gedefinieerd als de kleinste detecteerbare concentratie die verschilt van nul met een waarschijnlijkheid van 95%. Ze werd gemeten tot 0,02 U / mL.

### B. Specificiteit

De monoklonale antilichamen die in de kit worden gebruikt, zijn specifiek voor het N-terminale procollageen III-peptide col 1-3. De mogelijkheid van een kruisreactie met andere basale membraaneiwitten die optreden in de concentratiebereiken die fysiologisch relevant zijn, kan vrijwel worden uitgesloten.

### C. Precisie

Dit werd geëvalueerd met behulp van 2 monsters die 20 keer in dezelfde reeks werden onderzocht (Intra-Assay) en 3 monsters die in 12 verschillende runs werden onderzocht (Inter-Assay).

## INTRA-ASSAY PRECISIE

## INTER-ASSAY PRECISIE

Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)	Serum	N	Concent (U/ml)	CV (%)
A	20	1.5	3.5	D	12	1.1	2.7
B	20	7.7	7.5	E	12	1.9	6.0
				F	12	6.9	6.8

CV: Variatiecoëfficiënt

### D. Nauwkeurigheid

Monsters met hoge concentraties PIIP werden verdund. De verkregen terugwinningspercentages varieerden van 69 tot 103%. Bekende hoeveelheden PIIP werden toegevoegd aan menselijke sera. De terugwinningspercentages van de monsters varieerden van 81 tot 117%.

### E. Interferenties

De aanwezigheid van bilirubine in concentraties tot 0,5 mg/mL, hemoglobine tot 20 mg/mL en triglyceriden tot 25 mg/mL hebben geen effect op de assayresultaten. De immunoassay is beschermd tegen heterofiele antilichamen. We kunnen echter niet garanderen dat deze bescherming volledig is.

## XIV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Als de resultaten die zijn verkregen voor Controle 1 en/of Controle 2 niet binnen het bereik vallen dat op het flaconetiket staat vermeld, kunnen de resultaten niet worden gebruikt tenzij er een bevredigende verklaring voor de afwijking is gegeven.
- Indien gewenst kan elk laboratorium zijn eigen pools van controlemonsters maken, die in porties moeten worden ingevroren.
- Acceptatiecriteria voor het verschil tussen de dubbele resultaten van de monsters dienen te berusten op goede laboratoriumpraktijken.

## XV. REFERENTIE-INTERVALLEN

De klinische proeven werden uitgevoerd in verschillende centra op een collectief van 158 gezonde vrijwilligers (beide geslachten), van ouder dan 20 jaar. Naast deze volwassenenstudie werd er ook een specifieke studie voor kinderen en jongeren uitgevoerd.

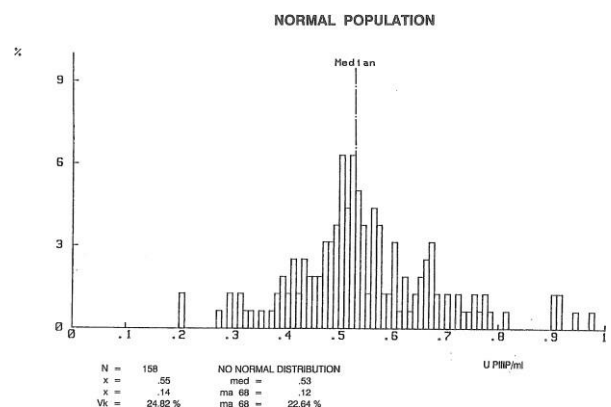
Het wordt aanbevolen dat elk laboratorium zijn eigen normale waarden vaststelt. Onderstaande waarden zijn indicatief.

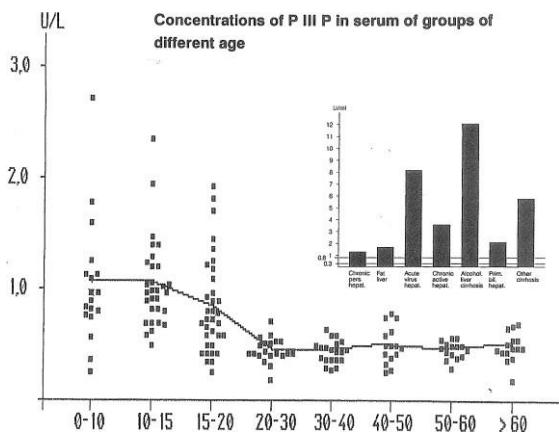
Normale waarden volwassenen (Normale waarden: 0,3 – 0,8 U/mL)

Normale waarde n	n	Gemiddelde U/mL	5. Perc. U/mL	95. Perc. U/mL	Min. U/mL	Max. U/mL
	158	0.53	0.33	0.79	0.21	0.98

Normale waarden kinderen

Leeftijd	n	Gemiddelde U/mL	5. Perc. U/mL	95. Perc. U/mL	Min. U/mL	Max. U/mL
0 - 10	19	0.98	0.34	6.1	0.29	9.4
10 - 15	30	1.0	0.64	1.7	0.52	2.4
15 - 20	34	0.76	0.37	1.8	0.29	1.95
> 20	158	0.53	0.33	0.79	0.21	0.98





**XVI. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN**

**Veiligheid**

Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

Dit radioactieve product mag alleen worden ontvangen, gekocht, opgeslagen of gebruikt door daartoe bevoegde personen en door laboratoria die onder een dergelijke machtiging vallen. De oplossing mag in geen geval aan mensen of dieren worden toegediend. De aankoop, opslag, gebruik en uitwisseling van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetten die van kracht zijn in het land van de gebruiker. Handhaving van de basisregels voor stralingsbescherming zal zorgen voor voldoende beveiliging.

Een samenvatting hiervan wordt hieronder gegeven:

Radioactieve producten moeten in hun originele containers op een geschikte plaats worden bewaard. Van ontvangst en opslag van radioactieve producten moet een register worden bijgehouden.

Het gebruik van radioactieve producten dient plaats te vinden in een daartoe ingerichte ruimte met beperkte toegang (gecontroleerde zone).

Niet eten, drinken, roken of cosmetica gebruiken in een gecontroleerde zone. Pipetteer geen radioactieve oplossingen met de mond. Vermijd elk direct contact met alle radioactieve producten door laboratoriumjassen en beschermende handschoenen te gebruiken. Besmette laboratoriumapparatuur en glaswerk moeten onmiddellijk na besmetting worden weggegooid om kruisbesmetting van verschillende isotopen te voorkomen. Elke besmetting of verlies van radioactieve stoffen moet worden afgehandeld volgens de vastgestelde procedures. Elke berging van radioactief afval moet worden uitgevoerd volgens de geldende voorschriften.

De materialen van menselijke oorsprong in de reagentia van deze kit zijn getest met gelicentieerde kits en zijn negatief bevonden voor anti-HIV 1, anti-HIV 2 en anti-HCV-antilichamen en het HBs-antigeen. Aangezien het echter nog steeds onmogelijk is om strikt te garanderen dat dergelijke producten geen hepatitis, het HIV-virus of enige andere virale infectie kunnen overdragen, moeten alle materialen van menselijke oorsprong, inclusief de te onderzoeken monsters, als potentieel infectieus worden behandeld.

Niet met de mond pipetteren.

Niet roken, eten of drinken in ruimtes waar met monsters of kitreagentia wordt gewerkt. Draag wegwerphandschoenen bij het gebruik van kitreagentia of monsters en was daarna grondig de handen.

Vermijd spatten. Ontsmet en gooi monsters en alle potentieel besmette materialen weg alsof ze infectieuze agentia bevatten. De beste ontsmettingsmethode is autoclavieren gedurende minimaal een uur bij 121,5 °C. Sommige reagentia bevatten natriumazide als conserveermiddel. Vermijd elke absorptie van de reagentia, evenals elk contact met de huid of slijmvliezen. Natriumazide kan reageren met loden of koperen leidingen om zeer explosieve metaalaziden te vormen. Bij het afvoeren van afval goed verdunnen.

**XVII. BIBLIOGRAPHY**

Collazos J, Diaz F. Role of the measurement of serum procollagen type III N-terminal peptide in the evaluation of liver diseases. Clin Chim Acta. 1994;227:37-43.

Heickendorff L, Frost L, Madsen JK, et al. Serum propeptides of type I and III procollagens in renal transplant recipients. A comparison of cyclosporine and azathioprine treatment. Nephron. 1994;67:203-8.

Hiramatsu N, Hayashi N, Kasahara A et al. Improvement of liver fibrosis in chorioc hepatitis C patients treated with natural interferon alpha. J Hepatol. 1995;22:135-42.

Jeffers LJ, Coelho-Little ME, Cheinquer H, et al. Procollagen-III peptide and chronic viral C hepatitis. Am J Gastroenterol. 1995;90:1437-40.

Klappacher G, Franzen P, Haab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover

in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. Am J Cardiol. 1995;75:913-8.

Plebani M, Burlina A. Biochemical markers of hepatic fibrosis. Clin Biochem. 1991;24:219-39.

Yamauchi M, Mizuhara Y, Maezawa Y, Toda G. Serum tenascin levels in chronic liver disease. Liver. 1994;14:148-53.

Yudoh K, Matsui H, Kanamori M, Ohmori K, Tsuji H, Tatzaki S. Serum levels of laminin, type IV collagen and type III procollagen peptide as markers for detection of metastasis. Jpn J Cancer Res. 1994;85:1263-9.

**XVIII OVERZICHT VAN HET PROTOCOL**

	TOTAAL TELLINGEN µl	KALIBRATORS µl	MONSTER (S) CONTROLES µl
Kalibrators (0 tot 6) Monsters, Controles Incubatiebuffer	- - -	20 - 400	- 20 400
Incubatie	2 uur bij 18-25°C onder continu schudden (300 rpm)		
Separatie Working Wash-oplossing Separatie Working Wash-oplossing Separatie		Aspireren 1.0 ml Aspireren 1.0 ml Aspireren	
Tracer	400	400	400
Incubatie	3 uur bij 18-25°C onder continu schudden (300 rpm)		
Separatie Working Wash-oplossing Separatie Working Wash-oplossing Separatie		Aspireren 1.0 ml Aspireren 1.0 ml Aspireren	
Tellen	Tel buizen gedurende 60 seconden		

Andere vertalingen van deze gebruiksaanwijzing kunnen worden gedownload van onze website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

DIAsource Catalogus Nr : OCFK07-PIIP	Revisie nr : 220602
---	------------------------

Revisedatum : 02/06/2022

CE

DE

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

## PIIP-IRMA

### ***I. BESTIMMUNGSGEMÄSSE VERWENDUNG***

Radioimmunassay für die quantitative *In-vitro*-Messung von Prokollagen-III-Peptid (PIIP) in Blutserum.

Dieses Kit ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt.

### ***II. ALLGEMEINE INFORMATION***

**A. Handelsbezeichnung:** DIAsource PIIP-IRMA Kit

**B. Katalognummer:** OCFK07-PIIP: 96 Tests

**C. Hersteller:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

**Für technische Unterstützung oder Bestellinformationen**

**wenden Sie sich bitte an: Tel.: +32 (0)10 84 99 11**

**Fax : +32 (0)10 84 99 91**

### ***III. KLINISCHER HINTERGRUND***

#### **A. Biologische Aktivität**

Prokollagen Typ III wird in Fibroblasten als biosynthetische Vorstufe von Kollagen Typ III synthetisiert und anschließend freigesetzt. Die Propeptide werden bei der Umwandlung in Kollagen im extrazellulären Raum abgespalten. Das N-terminale Propeptid col 1-3 (PIIP) wird während dieses Prozesses in äquimolaren Anteilen zu Kollagen Typ III gebildet und gelangt in den Blutkreislauf. Der Serumspiegel des N-terminalen Propeptids kann daher als Maß für die Kollagen-III-Synthese herangezogen werden.

Das Prokollagen-III-Peptid col 1-3 (MW 45000) kann durch Proteolyse in Fraktionen col 1 (MW 10 000) aufgespalten werden, die mit dem DIAsource PIIP-IRMA-Kit nicht im Serum nachgewiesen werden.

#### **B. Klinische Anwendungen**

Die wichtigsten Kollagene im Bindegewebe der Leber sind vom Typ I und III, daneben gibt es geringe Mengen von Typ IV. Kommt es infolge pathologischer Zustände zu einer aktiven Proliferation des Bindegewebes (Fibrose) in der Leber, wird vermehrt Prokollagen III Peptid Col 1-3 gebildet.

Die Umwandlung von funktionierendem Lebergewebe in Bindegewebe ist anhand des erhöhten

Serumspiegels von Prokollagen III-Peptid nachweisbar. Dies ist z. B. bei alkoholischen oder virusbedingten Formen der Leberfibrose und -zirrhose der Fall. Erhöhte Prokollagen-III-Peptidwerte können auch bei einigen anderen Erkrankungen auftreten, weshalb sich dieser Parameter besonders für die Überwachung des Verlaufs von Lebererkrankungen eignet.

Pathologische Zustände der Leber, die mit einer aktiven Proliferation von Bindegewebe einhergehen, führen zu erhöhten Prokollagen-III-Peptid-Werten im Serum. Die tatsächliche Umwandlung von funktionierendem Lebergewebe in Bindegewebe kann durch die Messung von Prokollagen-III-Peptid im Serum nachgewiesen werden. Je nach Schweregrad der Erkrankung ist das Prokollagen-III-Peptid im Serum bei chronisch aktiver Hepatitis (CAH), Fibrose und Leberzirrhose erhöht. Die Werte bei chronisch persistierender Hepatitis (CPH) liegen im Allgemeinen im Normalbereich; bei Leberdegeneration kann Prokollagen-III-Peptid positiv erhöht sein. Bei akuter Hepatitis ist Prokollagen-III-Peptid im Serum ebenfalls erhöht. Es gibt jedoch auch andere Erkrankungen, bei denen das Prokollagen-III-Peptid erhöht ist, ohne dass eine Veränderung in der Leber nachweisbar ist (z. B. Lungenfibrose, rheumatische Erkrankungen, Myokardinfarkt, Akromegalie, Polytrauma). Die diagnostische Bedeutung liegt nicht in der Erstdiagnose, sondern in der Überwachung des Krankheitsverlaufs. Es besteht eine gute Korrelation mit histologischen Befunden bei Fibrose und Zirrhose.

#### IV. GRUNDSÄTZE DER METHODE

Der DIASource PIIP-IRMA-Kit ermöglicht die In-vitro-Bestimmung von humanem Prokollagen III-Peptid in menschlichem Serum (oder Plasma) nach dem Prinzip eines 2-Schritt-Sandwich-Tests. Dabei wird ein Komplex aus Festphasen-Anti-PIIP-Antikörpern (monoklonal, Maus), Prokollagen III-Peptid in der Probe und <sup>125</sup>I-markierten Anti-PIIP-Antikörpern (monoklonal, Maus) gebildet. Am Ende der Reaktion wird der freie Tracer durch Abgießen (oder Absaugen) und anschließendes Waschen entfernt.

Die Menge des spezifisch an die beschichteten Proberöhrchen gebundenen Tracers wird mit einem Szintillationszähler zur Untersuchung der Gamma-Spektren gemessen.

Die Auswertung der Unbekannten erfolgt durch Ablesen von einer unter identischen Bedingungen erstellten Kalibrierkurve.

#### V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Tests Kit	Rekonstitution			
Mit monoklonalem Anti-PIIP-Maus-Antikörper beschichtete Röhrchen	2 x 48	<b>Gebrauchsfertig</b>			
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>Ab</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> TRACER: monoklonaler Anti-PIIP <sup>125</sup> I-Maus-Antikörper, Natriumazid, Rindergelatine.	Ab	<sup>125</sup> I	1 Fläschchen 42 ml 315 kBq	<b>Gebrauchsfertig</b>	
Ab	<sup>125</sup> I				
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Nullkalibrator in Rinderalbumin, PIIP aus Kälberserum, Natriumazid.	CAL	0	1 Fläschchen lyophil.	0,5 ml destilliertes Wasser <b>hinzufügen</b>	
CAL	0				
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibratoren - N = 1 bis 6 (siehe genaue Werte auf den Fläschchenetiketten) in Rinderalbumin, PIIP aus Kälberserum, Natriumazid.	CAL	N	6 Fläschchen lyophil.	0,5 ml destilliertes Wasser <b>hinzufügen</b>	
CAL	N				
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>INC</td> <td>BUF</td> </tr> </table> Inkubationspuffer: monoklonaler Maus-Antikörper, Natriumazid	INC	BUF	1 Fläschchen 42 ml	<b>Gebrauchsfertig</b>	
INC	BUF				
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Waschlösung konz. (NaCl, Tween 20)	WASH	SOLN	CONC	1 Fläschchen 40 ml	20 x mit destilliertem Wasser <b>verdünnen</b> (Magnetrührer verwenden).
WASH	SOLN	CONC			
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kontrollen - N = 1 oder 2 In menschlichem Serum, Natriumazid.	CONTROL	N	2 Fläschchen lyophil.	0,5 ml destilliertes Wasser <b>hinzufügen</b>	
CONTROL	N				

**Anmerkung:** Den Inkubationspuffer für Serenverdünnungen verwenden. Um in Gewichtsmengen (µg/l) ausgedrückte Werte zu erhalten, müssen die Ergebnisse mit dem DIASource PIIP-IRMA Kit (U/ml) mit dem Faktor 8 multipliziert werden.

#### VI. NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

1. Destilliertes Wasser
2. Pipetten für: 20 µl, 400 µl und 500 µl (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen aus Kunststoff wird empfohlen).
3. Vortexmischer
4. Magnetrührer
5. Röhrchenschüttler
6. 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
7. Absaugsystem (optional)
8. Jeder Gammazähler, der <sup>125</sup>I messen kann, kann verwendet werden (minimale Ausbeute 70 %).

#### VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

**A. Kalibratoren:** Die Kalibratoren mit 0,5 ml destilliertem Wasser rekonstituieren.

**B. Kontrollen:** Die Kontrollen mit 0,5 ml destilliertem Wasser rekonstituieren.

**C. Arbeitswaschlösung:** Ein angemessenes Volumen an Arbeitswaschlösung

aus einem Anteil Waschlösung (20 x) mit 19 Anteilen destilliertem Wasser herstellen. Mit einem Magnetrührer homogenisieren. Nicht verwendete Arbeitswaschlösung nach jedem Arbeitstag entsorgen.

#### VIII. AUFBEWAHRUNG UND VERFALLSDATUM DER HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen oder Rekonstituieren sind alle Kitkomponenten bei 2 bis 8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren und Kontrollen bei -20 °C bis zum Verfallsdatum stabil. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.
- Die frisch hergestellte Arbeitswaschlösung sollte am selben Tag aufgebraucht werden.
- Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Lagerung im dicht verschlossenen Original-Fläschchen und bei 2 bis 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können auf Instabilität bzw. Zerfall hindeuten.

#### IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

Wenn Blutproben entnommen wurden, wird das Serum oder Plasma nach den üblichen Methoden gewonnen. Das Serum oder Plasma wird direkt für den Test verwendet oder bis zu 3 Tage bei 2 bis 8°C gelagert. Bei längerer Aufbewahrung wird eine Temperatur von -20 °C empfohlen. Die Proben sollten nach dem Auftauen sorgfältig gemischt werden. Wiederholtes Auftauen sollte vermieden werden.

Die PIIP-Werte können bei einigen Patienten, die z. B. an Alkoholhepatitis und Polytrauma leiden, außerhalb des Messbereichs liegen. In solchen Fällen ist es ratsam, die Probe des Patienten 1/5 mit dem Inkubationspuffer zu verdünnen.

Mit dem DIASource PIIP-IRMA Kit können Konzentrationen von 0,1 bis 14 U/ml PIIP gemessen werden.

Bei Konzentrationen über 8 U/ml wird empfohlen, mit dem im Kit enthaltenen Inkubationspuffer zu verdünnen.

#### X. VERFAHREN

##### A. Hinweise zur Handhabung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten

nicht nach Verfallsdatum. Vermischen Sie

Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen nicht.

Bringen Sie alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur.

Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln

oder Rühren. Verwenden Sie für die Zugabe der verschiedenen Reagenzien

und Proben jeweils eine saubere Einwegpipettenspitze, um

Kreuzkontaminationen zu vermeiden. Präzisionspipetten oder ein

automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision.

Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.

Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrierkurve. Verwenden Sie keine Daten von früheren Durchläufen.

##### B. Verfahren

1. Beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und jede Kontrolle doppelt beschriften. Zur Bestimmung der Gesamtzählung 2 Röhrchen beschriften.
2. Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz auf dem Vortexmischer mischen und jeweils 20 µl davon in die entsprechenden Röhrchen geben.
3. 400 µl Inkubationspuffer in jedes Teströhrchen geben.
4. Die Teströhrchen auf einem Horizontalschüttler 2 Stunden lang bei 18 bis 25 °C (300 U/min) schütteln.
5. Absaugen
6. 1 ml Waschlösung in jedes Teströhrchen geben, absaugen. Diesen Vorgang einmal wiederholen.
7. 400 µl <sup>125</sup>I-anti-PIIP-Lösung in jedes Röhrchen geben.
8. Auf dem Horizontalschüttler 3 Stunden lang bei 18 bis 25 °C (300 U/min) schütteln.
9. Absaugen
10. 1 ml Waschlösung in jedes Teströhrchen geben, absaugen. Diesen Vorgang einmal wiederholen.
11. Die Röhrchen 1 Minute lang mit einem Gammazähler messen.

#### XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen berechnen.

2. Die gebundene Radioaktivität als Prozentsatz der am Nullkalibratorpunkt (0) ermittelten Bindung nach folgender Formel berechnen:

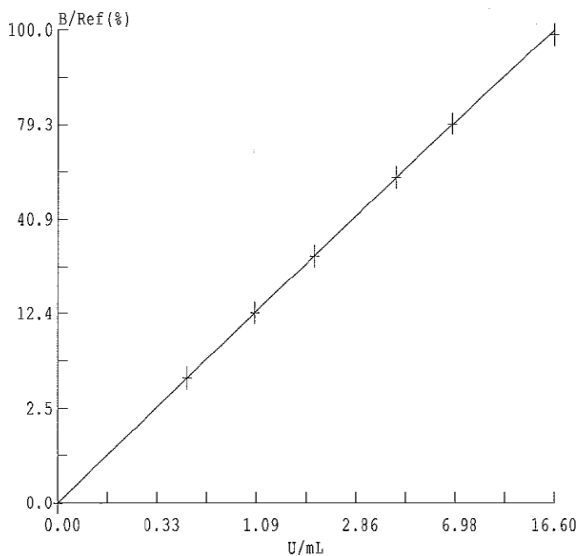
$$B/B0 (\%) = \frac{\text{Zählungen (Kalibrator oder Probe)} \times 100}{\text{Zählungen (Nullkalibrator)}}$$

- Die (B/B0(%))-Werte für jeden Kalibratorpunkt als Funktion der PIIP-Konzentration jedes Kalibratorpunkts darstellen. Offensichtliche „Ausreißer“ ausschließen.
- Zur Erstellung der Kalibrierkurve können computergestützte Methoden verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer Vier-Parameter-Kurvenfunktion.
- PIIP-Konzentrationen der Proben über Interpolation der Probenwerte (B/B0 (%)) aus der Kalibrierkurve bestimmen.
- Bei jedem Assay muss der Prozentsatz des gesamten gebundenen Tracers in Abwesenheit von unmarkiertem PIIP (B0/T) überprüft werden.

### XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitkalibrierkurve verwendet werden.

PIIP	Cpm	Konzentration (U/ml)
Kalibrator 0	1010	0
Kalibrator 1	5673	0,49
Kalibrator 2	14379	1,07
Kalibrator 3	30079	1,94
Kalibrator 4	63531	4,13
Kalibrator 5	85575	6,82
Kalibrator 6	106620	16,6
Kontrolle 1	28030	1,82
Kontrolle 2	83616	6,53



### XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN

#### A. Nachweisgrenze

Die mit der Analysemethode ermittelte Nachweisgrenze ist definiert als die kleinste nachweisbare Konzentration, die mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % von Null abweicht. Sie wurde unterhalb von 0,02 U/ml gemessen.

#### B. Spezifität

Die im Kit verwendeten monoklonalen Antikörper sind spezifisch für das N-terminale Prokollagen-III-Peptid col 1-3. Die Möglichkeit einer Kreuzreaktion mit anderen Basalmembranproteinen, die in den physiologisch relevanten Konzentrationsbereichen vorkommen, kann nahezu ausgeschlossen werden.

#### C. Präzision

Dies wurde anhand von 2 Proben, die 20 Mal in derselben Serie getestet wurden (Intra-Assay), und 3 Proben, die in 12 verschiedenen Durchläufen getestet wurden (Inter-Assay), evaluiert.

### INTRA-ASSAY PRÄZISION INTER-ASSAY PRÄZISION

Serum	N	Konzentration (U/ml)	CV (%)	Serum	N	Konzentration (U/ml)	CV (%)
A	20	1,5	3,5	D	12	1,1	2,7
B	20	7,7	7,5	E	12	1,9	6,0
				F	12	6,9	6,8

CV: Variationskoeffizient

#### D. Genauigkeit

Proben mit hohen Konzentrationen von PIIP wurden verdünnt. Die erzielten Wiederfindungsraten reichten von 69 % bis 103 %. Menschlichen Seren wurden bekannte Mengen von PIIP zugesetzt. Die Wiederfindungsraten der Proben reichten von 81 % bis 117 %.

#### E. Interferenzen

Das Vorhandensein von Bilirubin in Konzentrationen von bis zu 0,5 mg/ml, Hämoglobin bis zu 20 mg/ml und Triglyceride bis zu 20 ml/ml haben keinen Einfluss auf die Testergebnisse. Der Immunoassay ist gegen heterophile Antikörper geschützt. Wir können jedoch nicht garantieren, dass dieser Schutz vollständig ist.

### XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Werte bei Kontrolle 1 und/oder Kontrolle 2 nicht dem auf dem Fläschchenetikett angegebenen Bereich, können die Ergebnisse ohne hinreichende Erklärung der Abweichungen nicht verwendet werden.
- Falls gewünscht, kann jedes Labor seine eigenen Pools mit Kontrollproben herstellen, die aliquotiert eingefroren werden sollten.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Doppelergebnissen der Proben sollten auf den Regeln für gute Laborpraxis beruhen.

### XV. REFERENZINTERVALLE

Die klinischen Studien wurden in verschiedenen Zentren an insgesamt 158 gesunden Freiwilligen (beiderlei Geschlechts) im Alter von über 20 Jahren durchgeführt. Zusätzlich zu dieser Studie mit Erwachsenen wird eine spezifische Studie mit Kindern und Jugendlichen durchgeführt.

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Normalwerte festlegt. Die unten angegebenen Werte sind Richtwerte.

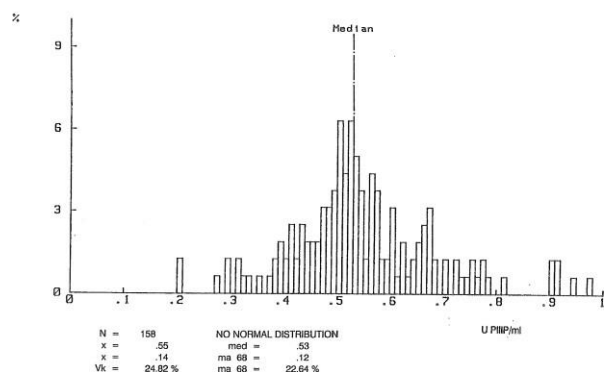
Normalwerte für Erwachsene (Normalwerte: 0,3 – 0,8 U/ml)

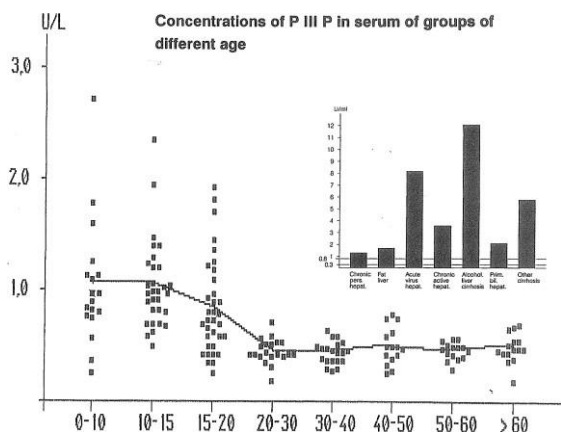
Normalwerte	n	Mittelwert U/ml	5. Proz. U/ml	95. Proz. U/ml	Min. U/ml	Max. U/ml
	158	0,53	0,33	0,79	0,21	0,98

Normalwerte Kinder

Alter	n	Mittelwert U/ml	5. Proz. U/ml	95. Proz. U/ml	Min. U/ml	Max. U/ml
0–10	19	0,98	0,34	6,1	0,29	9,4
10–15	30	1,0	0,64	1,7	0,52	2,4
15–20	34	0,76	0,37	1,8	0,29	1,95
> 20	158	0,53	0,33	0,79	0,21	0,98

#### NORMAL POPULATION





**XVI. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN**

**Sicherheit**

Nur zur *In-vitro*-Diagnostik.  
 Dieses radioaktive Produkt darf nur von autorisierten Personen, und an Laboratorien, die unter eine solche Befugnis fallen, entgegengenommen, gekauft, gelagert oder verwendet werden. Die Lösung darf unter keinen Umständen Menschen oder Tieren verabreicht werden. Der Erwerb, die Lagerung, die Verwendung und der Austausch von radioaktiven Produkten unterliegen der Gesetzgebung des Landes des Anwenders. Die Einhaltung der grundlegenden Strahlenschutzvorschriften gewährleistet eine angemessene Sicherheit.  
 Eine Zusammenfassung dieser Vorschriften ist nachstehend aufgeführt:  
 Radioaktive Produkte müssen in ihren Originalbehältern an einem geeigneten Ort gelagert werden. Ein Protokoll über den Empfang und die Lagerung von radioaktiven Produkte sollte auf dem neuesten Stand gehalten werden.  
 Der Umgang mit radioaktiven Produkten sollte in einem entsprechend ausgestatteten Bereich mit beschränktem Zugang (kontrollierte Zone) erfolgen.  
 In der kontrollierten Zone darf nicht gegessen, getrunken, geraucht oder Kosmetika aufgetragen werden. Radioaktive Lösungen dürfen nicht mit dem Mund pipettiert werden. Jeden direkten Kontakt mit allen radioaktiven Produkten vermeiden, indem Laborkittel und Schutzhandschuhe getragen werden. Kontaminierte Laborgeräte und -glaswaren müssen sofort nach der Kontamination entsorgt werden, um eine Kreuzkontamination verschiedener Isotope zu vermeiden. Eine Kontamination oder der Verlust radioaktiver Substanzen ist gemäß den feststehenden Verfahren zu behandeln. Alle radioaktiven Abfälle müssen gemäß den geltenden Vorschriften entsorgt werden.  
 Die in den Reagenzien dieses Kits enthaltenen Rohmaterialien menschlichen Ursprungs wurden mit lizenzierten Kits getestet und als negativ für Anti-HIV-1-, Anti-HIV-2- und Anti-HCV-Antikörper sowie das HBs-Antigen befunden. Da es jedoch nach wie vor nicht möglich ist, mit absoluter Sicherheit auszuschließen, dass solche Produkte Hepatitis, das HIV-Virus oder andere virale Infektionen übertragen können, müssen alle Rohmaterialien menschlichen Ursprungs, einschließlich der zu untersuchenden Proben, als potenziell infektiös behandelt werden.  
 Nicht mit dem Mund pipettieren.  
 In Bereichen, in denen mit Proben oder Kit-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken. Beim Umgang mit Kit-Reagenzien oder Proben Einweghandschuhe tragen und anschließend gründlich die Hände waschen. Inhalt nicht verspritzen. Proben und alle potenziell kontaminierten Materialien so dekontaminieren und entsorgen, als würden sie Erreger enthalten. Die beste Dekontaminierungsmethode ist das Autoklavieren für mindestens eine Stunde bei 121,5 °C. Einige Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Eine Aufnahme der Reagenzien sowie jeden Kontakt mit der Haut oder den Schleimhäuten. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung von Abfällen gut verdünnen.

**XVII. LITERATUR**

Collazos J, Diaz F. Role of the measurement of serum procollagen type III N-terminal peptide in the evaluation of liver diseases. Clin Chim Acta. 1994;227:37-43.  
 Heckendorff L, Frost L, Madsen JK, et al. Serum propeptides of type I and III procollagens in renal transplant recipients. A comparison of cyclosporine and azathioprine treatment. Nephron. 1994;67:203-8.  
 Hiramatsu N, Hayashi N, Kasahara A et al. Improvement of liver fibrosis in

chorionic hepatitis C patients treated with natural interferon alpha. J Hepatol. 1995;22:135-42.  
 Jeffers LJ, Coelho-Little ME, Cheinquer H, et al. Procollagen-III peptide and chronic viral C hepatitis. Am J Gastroenterol. 1995;90:1437-40.  
 Klappacher G, Franzen P, Haab D, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. Am J Cardiol. 1995;75:913-8.  
 Plebani M, Burlina A. Biochemical markers of hepatic fibrosis. Clin Biochem. 1991;24:219-39.  
 Yamauchi M, Mizuhara Y, Maezawa Y, Toda G. Serum tenascin levels in chronic liver disease. Liver. 1994;14:148-53.  
 Yudoh K, Matsui H, Kanamori M, Ohmori K, Tsuji H, Tatezaki S. Serum levels of laminin, type IV collagen and type III procollagen peptide as markers for detection of metastasis. Jpn J Cancer Res. 1994;85:1263-9.

**XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS**

	<b>GESAMTZAHL DER ZÄHLUNGEN</b> µl	<b>KALIBRATOREN</b> N µl	<b>PROBE(N) KONTROLLEN</b> µl
Kalibratoren (0 bis 6) Proben, Kontrollen Inkubationspuffer	- - -	20 - 400	- 20 400
Inkubation	2 Stunden bei 18 bis 25 °C unter ständigem Schütteln (300 U/min)		
Separation Arbeitswaschlösung Separation Arbeitswaschlösung Separation	Absaugen 1,0 ml Absaugen 1,0 ml Absaugen		
Tracer	400	400	400
Inkubation	3 Stunden bei 18 bis 25 °C unter ständigem Schütteln (300 U/min)		
Separation Arbeitswaschlösung Separation Arbeitswaschlösung Separation	Absaugen 1,0 ml Absaugen 1,0 ml Absaugen		
Zählung	Röhrchen 60 Sekunden lang zählen		

Andere Übersetzungen dieser Gebrauchsanweisung können von unserer Website heruntergeladen werden: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

DIAsource Katalognummer: OCFK07-PIIIP	Revisionsnummer: 220602
--	----------------------------

Überarbeitungsdatum: 02.06.2022