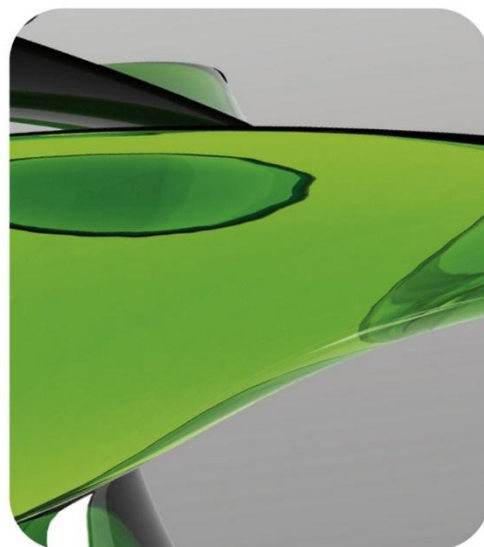




AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® MMP-3

Ref 3168



Instrucciones de uso

Índice

1	Finalidad prevista.....	1
2	Aplicación clínica y principio de ensayo	1
3	Componentes del KIT	1
4	Almacenaje y caducidad	2
5	Advertencias y precauciones	3
6	Muestreo, preparativos y almacenaje.....	4
7	Realización del ensayo	4
8	Valoración cuantitativa.....	7
9	Datos técnicos	8
10	Datos/característica de ensayo	8
11	Bibliografía.....	11
12	Símbolos reglamentarios	12



Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Phone: +49 6734 9622-0
Fax: +49 6734 9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

1 Finalidad prevista

AESKULISA® MMP-3 es un inmunoensayo enzimático de fase sólida que utiliza dos anticuerpos diferentes anti MMP-3 humana monoclonales para la determinación cuantitativa de la concentración de MMP-3 en el suero humano. Los resultados se indican en ng/ml. El intervalo estándar de la curva es de 0 a 200 ng/ml.

Los ensayos constituyen una herramienta para el diagnóstico de la artritis reumatoide (AR).

2 Aplicación clínica y principio de ensayo

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada principalmente por inflamaciones articulares que provoca mermas funcionales de las articulaciones y discapacidades graves si no se detiene a tiempo el avance de la enfermedad. **AESKULISA® MMP-3** ayuda a identificar pacientes con AR que pueden beneficiarse de la aplicación temprana de un tratamiento agresivo con medicamentos. **AESKULISA® MMP-3** puede utilizarse también para llevar un control y seguimiento de los resultados terapéuticos.

La metaloproteinasa de matriz 3 (MMP-3, estromelisina-1) pertenece a la familia de las metaloproteinasas. Se expresa principalmente en las células del tejido conectivo y desempeña una función importante en procesos metabólicos de la matriz extracelular (MEC). La MMP-3 puede escindir muchos componentes de la MEC como, p. ej., proteoglucanos, fibronectina, laminina y muchos otros colágenos. Debido a esta enorme diversidad de sustratos y a la capacidad de activar otras enzimas de degradación catalíticas, incluidas otras metaloproteinasas de matriz, la MMP-3 desempeña una función clave en los procesos fisiológicos y patológicos de remodelación de tejidos.

La MMP-3 se segrega como forma inactiva (pro-MMP-3, 52 kDa) y es activada por endopeptidasas mediante proteólisis limitada. La MMP-3 activa (45 kDa y 35 kDa) puede inhibirse mediante unión a inhibidores tisulares de metaloproteinasas de matriz (TIMP) o α 2-macroglobulina. La regulación de la actividad de la MMP-3 es necesaria para evitar la destrucción de la MEC y conservar el equilibrio fisiológico de los procesos de remodelación de tejidos. En consonancia con lo señalado, diferentes estados patológicos como, p. ej., cáncer, aterosclerosis y artritis, suelen tener asociadas concentraciones elevadas de MMP-3.

Se ha demostrado que la concentración sérica de MMP-3 en pacientes con AR es significativamente mayor que la de personas control sanas. La inflamación persistente y la proliferación de tejido sinovial en los pacientes con AR provoca que aumente la expresión de la MMP-3 y la secreción de la misma al líquido sinovial. La cantidad de MMP-3 en el líquido sinovial está correlacionada con la concentración sérica de MMP-3. En consecuencia, la MMP-3 en suero refleja el proceso inflamatorio de las articulaciones afectadas y es un marcador del grado de actividad de la enfermedad. Los procesos destructivos en las articulaciones de pacientes con AR pueden correlacionarse con concentraciones elevadas de MMP-3 y diagnosticarse incluso en la fase inicial de la enfermedad.

El **AESKULISA® MMP-3** mide la MMP-3 total (pro-MMP-3 y MMP-3 activa) en el suero humano y es una herramienta para la evaluación del riesgo de desarrollo de destrucciones articulares y el control de actividad de la enfermedad y de los resultados terapéuticos en pacientes con AR.

Principio de ensayo

Las muestras de suero diluidas **1:10** se incuban en los pocillos revestidos con un anticuerpo monoclonal de la MMP-3 humana. La MMP-3 del suero del paciente se une al anticuerpo de la placa; los componentes séricos no unidos se eliminan en el paso de lavado que sigue. A continuación se añade un anticuerpo monoclonal de la MMP-3 humana marcado con peroxidasa de rábano (conjugado). Durante una incubación, el anticuerpo se une al complejo de anticuerpo y MMP-3 formado previamente. El conjugado no unido se elimina en el paso de lavado siguiente. Para detectar la presencia de MMP-3 unido se utiliza una reacción cromógena enzimática (azul) del sustrato que se detiene añadiendo ácido diluido (el color vira a amarillo). La intensidad de coloración del cromógeno depende de la cantidad de conjugado unido al complejo de anticuerpo y MMP-3 y es, por tanto, directamente proporcional a la concentración sérica de MMP-3.

3 Componentes del KIT

Diluir antes de usar

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS				Produkt Ref.:	3168
				Produkt Name.	MMP-3
				Versionsnummer:	004: 2024-12-19
Componente del kit	Cantidad	Color del cierre	Color de la solución	Descripción/contenido	
Tampón de carga 5x	1 x 20 ml	blanco	amarillo	concentración 5x Tris, NaCl, BSA, acida sólida < 0,1 % (conservante)	
Tampón de lavado 50x	1 x 20 ml	blanco	verde	concentración 50x Tris, NaCl, Tween 20, acida sólida < 0,1 % (conservante)	
Listo para usar:					
Componente del kit	Cantidad	Color del cierre	Color de la solución	Descripción/contenido	
Control negativo	1 x 1,5 ml	verde	incoloro	BSA, acida sódica < 0,1 % (conservante)	
Control positivo	1 x 1,5 ml	rojo	amarillo	MMP-3 humana purificada, BSA, acida sódica < 0,1 % (conservante)	
Calibradores	6 x 1,5 ml	blanco	amarillo*	Concentraciones de los calibradores: 0, 5, 20, 50, 100, 200 ng/ml. MMP-3 humana purificada, BSA, acida sódica < 0,1 % (conservante)	
Conjugado	1 x 15 ml	azul	azul	Anticuerpo de MMP-3 humana marcado con peroxidasa de rábano, BSA	
Sustrato TMB	1 x 15 ml	negro	incoloro	TMB/H2O2 estabilizado	
Solución de parada	1 x 15 ml	blanco	incoloro	ácido clorhídrico 1M	
Tira de micropocillo	12 x 8 well strips	N/D	N/D	divisible. Revestimiento, véase punto 1.	
*La intensidad de la coloración aumenta con la concentración					
Materiales necesarios no incluidos en el kit:					
Fotómetro de placas microtiter con filtro óptico para 450 nm, opcionalmente con longitud de onda de referencia de 620 nm (600-690 nm). Material de vidrio (cilindros 100-1000 ml), probetas para diluciones, agitador tipo vórtex, micropipetas (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o multipipeta ajustable. Unidad de lavado de placas microtiter (multipipeta de 300 µl, pipeta multicanal o sistema de lavado automático), papel de filtro. Nuestros ensayos se han desarrollado para el uso con agua purificada (purified water) según la definición de la Farmacopea de Estados Unidos (USP 26 - NF 21) y de la Farmacopea Europea (Eur. Ph. 4.ª ed.).					

4 Almacenaje y caducidad

Los reactivos del kit y la placa microtiter deben almacenarse a 2 – 8 °C / 35,6 - 46,4 °F en las botellas originales. Las soluciones diluidas tienen una duración de un mes a 2 – 8 °C / 35,6 - 46,4 °F. Respetar las fechas de caducidad indicadas en las etiquetas y el embalaje de los distintos componentes. ¡No usar componentes de kit caducados! No exponer la solución de sustrato TMB a fuentes de luz intensas. Guardar las placas microtiter siempre dentro de la lámina de embalaje cerrada con la bolsa antihumedad dentro.

5 Advertencias y precauciones

5.1 Riesgos para la salud

Este producto debe utilizarse exclusivamente para DIAGNÓSTICOS IN VITRO.

La aplicación deberá realizarla personal con instrucción y formación específica en el manejo de productos para el diagnóstico in vitro. Si bien los reactivos contenidos en este productos no están clasificados como tóxicos o peligrosos para la salud si se manejan correctamente, deberán tomarse las siguientes medidas para garantizar la máxima seguridad del usuario:

Recomendaciones y precauciones

Algunos componentes del kit contienen reactivos potencialmente peligrosos que pueden provocar irritación de los ojos y la piel.

ATENCIÓN: los calibradores, los controles y los tampones contienen acida sódica (NaN_3) como conservante. La NaN_3 puede tener efecto tóxico si se ingiere o se absorbe a través de la piel o los ojos. La NaN_3 puede formar acidas metálicas altamente explosivas en combinación con tubos de plomo o cobre. Para evitar la concentración de acida, aclarar con agua abundante al desechar estas soluciones. Respetar lo especificado en las normativas locales/nacionales en materia de descontaminación.

No comer, beber o fumar mientras se trabaja con el kit. No pipetear con la boca; llevar guantes desechables.

Los reactivos de origen humano contenidos en este producto (controles y calibradores) han resultado negativos para la prueba de antígeno superficial de hepatitis B (HbsAg), hepatitis C y HIV 1 y 2. No obstante, en productos de origen humano no puede excluirse nunca con total seguridad que contengan los patógenos señalados o, en su caso, otros desconocidos o no diagnosticados. Por esta razón, los controles, calibradores y sueros de los pacientes deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse con arreglo a lo establecido en la legislación nacional. El producto contiene componentes de origen animal según se especifica en la tabla de componentes: respetar las normativas nacionales relativas a la manipulación de estos materiales.

5.2 Indicaciones generales

En caso de detectar errores en la información del producto o en el etiquetado, rogamos contactar con el fabricante o distribuidor del kit.

Los controles, calibradores, conjugados o las placas microtiter de lotes diferentes no deben intercambiarse porque podrían falsearse los resultados de las mediciones.

Dejar que todos los componentes del kit alcancen temperatura ambiente (20 – 26 °C / 68 – 78,8 °F) y mezclarlos bien antes de comenzar el ensayo. Respetar al pie de la letra el protocolo de ejecución del ensayo.

Incubación: la temperatura de realización del ensayo (también con equipos automáticos) no debe rebasar 26 °C / 78,8 °F.

Los componentes del kit no deben dejarse en ambientes con temperaturas mayores que 37 °C / 98,6 °F.

Pipetear la solución del sustrato siempre con puntas de pipeta nuevas para evitar toda contaminación. No exponer la solución de sustrato a fuentes de luz intensas. No pipetear la solución de conjuntado con puntas de pipeta contaminadas con otros reactivos.

El diagnóstico clínico final no debe basarse exclusivamente en los resultados del ensayo realizado; deberá emitirlo el médico teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y analíticos. El diagnóstico deberá confirmarse siempre utilizando diferentes métodos.



6 Muestreo, preparativos y almacenaje

Se recomienda utilizar muestras de suero frescas. La extracción de sangre se realizará con arreglo a lo establecido en la legislación nacional. No utilizar muestras de suero ictericas, hemolíticas, lipémicas o con contaminación bacteriana. En muestras turbias, centrifugar las partículas a baja velocidad ($<1000 \times g$). Recoger las muestras de sangre en probetas limpias, secas y vacías.

Después de la extracción, las muestras de suero deberán utilizarse en un plazo de 8 horas o podrán guardarse cerradas hasta 48 h a $2 - 8^{\circ}\text{C}$ / $35,6 - 46,4^{\circ}\text{F}$. Para un almacenaje prolongado, congelar las muestras a -20°C / -4°F .

¡No está permitido utilizar muestras de plasma en este ensayo!

7 Realización del ensayo

7.1 Preparativos

Dilución de reactivos concentrados:

Diluir el tampón de carga concentrado en proporción 1:5 con agua destilada,
p. ej., 20 ml + 80 ml.

Diluir el tampón de lavado concentrado en proporción 1:50 con agua destilada,
p. ej., 20 ml + 980 ml.

Para evitar errores, recomendamos identificar los tapones de los calibradores y los controles.

Dilución de las muestras de pacientes:

Diluir las muestras de suero en proporción **1:10** con tampón de carga diluido (1x) y mezclar,
p. ej., 450 µl tampón de carga + 50 µl suero.

Lavado:

Se precisan 20 ml de tampón de lavado diluido (1x) cada 8 pocillos o 200 ml para 96 pocillos,

p. ej., 4 ml de concentrado más 196 ml de agua destilada.

Lavado automático:

Para la puesta en marcha del instrumento y el volumen muerto, deben calcularse volúmenes de tampón de lavado adicionales.

Lavado manual:

Eliminar detenidamente el líquido golpeando la placa sobre papel de filtro. Pipetear 300 µl de tampón de lavado diluido en cada pocillo y esperar 20 segundos. Repetir la operación dos veces.

Placa microtiter:

Separar los pocillos no utilizados y almacenarla en frío ($2 - 8^{\circ}\text{C}$ / $35,6 - 46,4^{\circ}\text{F}$) dentro de la lámina de embalaje junto con la bolsa antihumedad.

7.2 Esquema de pipeteo

Recomendamos pipetear los calibradores, los controles y las muestras con arreglo a la siguiente tabla:

	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	...	
H	Cal D	NC	...	

Cal A: calibrador A

Cal B: calibrador B

Cal C: calibrador C

Cal D: calibrador D

Cal E: calibrador E

Cal F: calibrador F

PC: control positivo

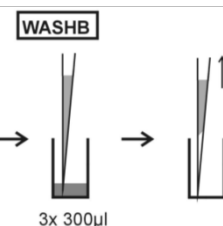
NC: control negativo

P1: paciente 1

P2: paciente 2

P3: paciente 3

7.3 Pasos

Paso	Descripción
1.	Asegúrese de que se han realizado los preparativos del apartado 7.1 antes de comenzar.
2.	Aplicar los siguientes pasos en función del tipo de interpretación cuantitativa de los resultados.
Calibradores, controles y muestras	
3.	 Pipetear 100 µl de cada solución en los pocillos correspondiente según el apartado 7.2: • calibradores (Cal A - Cal F), • control negativo (NC) y control positivo (PC) y • muestras de pacientes diluidas (P1, P2,...)
4.	 Incubar 30 minutos a 20 – 26 °C / 68 – 78,8 °F.
5.	 Lavar 3 veces con 300 µl de tampón de lavado en dilución 1:50.



CONJUGADO

6.

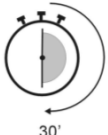
CONJ



+100 µl

Introducir 100 µl de solución de conjugado enzimático en cada pocillo.

7.

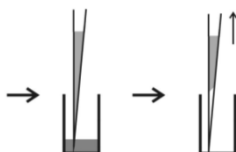


30'

Incubar 30 minutos a 20 – 26 °C / 68 – 78,8 °F.

8.

WASHB



3x 300µl

Lavar 3 veces con 300 µl de tampón de lavado en dilución 1:50.

SUSTRATO

9.

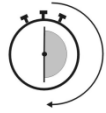
SUB



+100 µl

Pipetear 100 µl de solución de sustrato TMB en cada pocillo.

10.



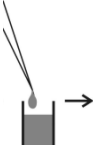
30'

Incubar 30 minutos a 20 – 26 °C / 68 – 78,8 °F y proteger contra fuentes de luz intensas.

PARADA

11.

STOP



+100 µl

Pipetear 100 µl de solución de parada por pocillo en el orden en que se introdujo el sustrato.

12.



5'

Incubar por lo menos durante 5 minutos.

13.

Agitar la placa con precaución durante 5 segundos.

14.



450/620 nm

Medir la densidad óptica a 450 nm dentro de los 30 minutos siguientes (se recomiendan 450/620 nm).

8 Valoración cuantitativa

La **valoración cuantitativa** se realiza sobre una curva estándar en la que la densidad óptica de los calibradores (eje y) se representa frente a la concentración en ng/ml (eje x). Para la valoración se recomienda una representación log/lin y un ajuste "4-Parameter-Fit" de la curva. La curva permite determinar la concentración de MMP-3 en ng/ml a partir de la densidad óptica de la muestra.

AESKULISA® MMP-3	Rango normal	Valores límite	Positivo
Mujeres	0 – 20 ng/ml	20 – 30 ng/ml	> 30 ng/ml
Hombres	0 – 40 ng/ml	40 – 50 ng/ml	> 50 ng/ml

Ejemplo de valoración

Este ejemplo no debe utilizarse para interpretar los resultados de los pacientes.

Calibradores MMP-3	DO 450/620 nm	CV % (varianza)
0 ng/ml	0,033	2,2
5 ng/ml	0,105	4,0
20 ng/ml	0,336	1,7
50 ng/ml	0,727	1,2
100 ng/ml	1,328	1,6
200 ng/ml	2,228	3,7

Ejemplo de cálculo

Paciente	Réplica (DO)	Media (DO)	Resultado (ng/ml)
P 01	0,264/0,258	0,261	17,2
P 02	1,323/1,326	1,325	97,5

Las muestras con un valor mayor que el calibrador más alto se anotarán como >Máx. Deberán diluirse adecuadamente y valorarse de nuevo con arreglo al factor de dilución. Las muestras con un valor menor que el rango de medición se anotarán como <Mín.

Consultar los datos de lotes específicos en el certificado de control incluido. Los laboratorios médicos deberán realizar controles de calidad internos con controles propios y/o pools de sueros el según reglamento nacional pertinente.

Se recomienda que cada laboratorio elabore sus propios valores normales sobre la base de sus técnicas, controles, equipos y población de pacientes.

Si los valores de los controles no cumplen los criterios de validación, el ensayo no es válido y deberá repetirse.

Deberán comprobarse los siguientes datos técnicos: fechas de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenaje, pipetas, equipos utilizados, fotómetros, condiciones de incubación y método de lavado.

Rogamos contactar con el fabricante o distribuidor del kit en caso de que las muestras ensayadas presenten valores o desviaciones inusuales o no se cumplan los criterios de validación por causas no determinables.

9 Datos técnicos

Material de las muestras:	siero
Volumen de las muestras:	100 µl de una dilución 1:10 de la muestra con 1x tampón de carga
Tiempo de incubación total:	90 minutos a 20 – 26 °C / 68 – 78,8 °F
Rango de medición:	0-200 ng/ml
Sensibilidad analítica:	5 ng/ml
Almacenaje:	a 2 – 8 °C / 35,6 - 46,4 °F en botellas originales.
Número de determinaciones:	96 ensayos

10 Datos/característica de ensayo

10.1 Sensibilidad analítica

Tras 80 ensayos de tampón de carga de **AESKULISA® MMP-3** se obtuvo un Limit of Blank de 4 ng/ml y el ensayo de 8 sueros con baja concentración de MMP-3 y 8 repeticiones produjo un Limit of Detection de 5 ng/ml.

10.2 Especificidad

Las placas microtiter están revestidas con anticuerpos monoclonales murinos contra MMP-3 humana. No se observaron reacciones cruzadas con otros antígenos.

10.3 Linealidad

En este ensayo se comprobó la existencia de una relación lineal entre dilución y concentración de anticuerpos en sueros seleccionados. Sin embargo, la heterogeneidad del suero humano no permite excluir la posibilidad de que determinados sueros presenten un comportamiento no lineal.

Muestra n.º	Dilución	Concentración medida (ng/ml)	Concentración esperada (ng/ml)	Recuperación (%)
1	1 / 10	178,4	178,4	100,0
	1 / 20	86,1	89,2	96,5
	1 / 40	45,0	43,0	104,6
	1 / 80	23,2	22,5	103,0
2	1 / 10	88,8	88,8	100,0
	1 / 20	44,1	44,4	99,4
	1 / 40	22,8	22,1	103,1
	1 / 80	11,3	11,4	99,5

10.4 Precisión

Para comprobar la precisión del ensayo, se calculó la varianza (varianza intraensayo, varianza interensayo y varianza "Lot-to-Lot") en cinco zonas diferentes de la curva estándar de cinco sueros analizando la reproducibilidad mediante 5 pasadas y 8 repeticiones por pasada. Para analizar la varianza "Lot-to-Lot" se realizaron 8 repeticiones de 5 sueros tomados de 3 lotes diferentes.

Intraensayo		
Muestra n.º	Media (ng/ml)	CV (%)
1	12,6	4,9
2	30,5	3,6
3	59,3	3,2
4	101,0	3,6
5	195,1	3,4

Interensayo		
Muestra n.º	Media (ng/ml)	CV (%)
1	12,6	7,6
2	30,5	4,5
3	59,3	4,5
4	101,0	4,8
5	195,1	4,6

10.5 Calibración

A falta de un estándar de referencia internacional, el **AESKULISA® MMP-3** se calibró respecto a cantidades definidas de MMP-3 humana recombinante purificada (pureza determinada mediante SEC-MALS: > 99 %). Los resultados se expresan en ng/ml.

10.6 Recuperación

La recuperación se determinó mediante la adición de diferentes cantidades definidas de MMP-3 humana recombinante a distintos sueros humanos. Mediante regresión lineal se determinaron las siguientes tasas de recuperación:

Muestra sérica	% de recuperación	Coefficiente de determinación R ²
1	101,4	0,9934
2	91,8	0,9938
3	88,5	0,9923

10.7 Valoración clínica

MMP-3 en individuos sanos

Para determinar el rango normal se determinaron los valores de MMP-3 de 156 muestras séricas de donantes de sangre sanos (46 mujeres y 110 hombres).

AESKULISA® MMP-3	Número	Mín. (ng/ml)	Máx. (ng/ml)	Med. (ng/ml)	95 percentiles
Hombres sanos	110	8,9	56,6	25,3	41,9
Mujeres sanas	46	5,1	32,5	14,2	29,7



Con los valores determinados, se establecieron los siguientes rangos normales:

AESKULISA® MMP-3	Rango normal	Valores límite	Resultados positivos
Mujeres	0 - 20 ng/ml	20-30 ng/ml	> 30 ng/ml
Hombres	0 - 40 ng/ml	40-50 ng/ml	> 50 ng/ml

MMP-3 en distintas enfermedades autoinmunes en comparación con la artritis reumatoide y en personas sanas

En el ensayo se analizó la concentración de MMP-3 de un total 627 de muestras séricas (composición, véase tabla). Los resultados se resumen en la tabla:

Enfermedad	Número	Mín. (ng/ml)	Máx. (ng/ml)	Med. (ng/ml)	Pos.	Neg.
Espondiloartritis	80	0,0	287,4	14,3	29 (36,3%)	51 (63,8%)
Celiaquía	15	5,9	22,8	12,6	1 (6,7%)	14 (93,3%)
Celiaquía + DH	32	8,5	142,4	28,3	19 (59,4%)	13 (40,6%)
LES	24	14,5	200,8	46,2	22 (91,7%)	2 (8,3%)
Vasculitis	117	5,2	283,5	47,9	97 (82,9%)	20 (17,1%)
Personas sanas	156	8,9	56,6	22,0	3 (1,9%)	153 (98,1%)
Artritis reumatoide	203	0,7	280,2	33,2	139 (68,5%)	64 (31,5%)

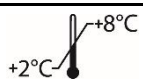
LES = Lupus eritematoso sistémico, DH = Dermatitis herpetiforme

Según se describe en la bibliografía, existen varias enfermedades inflamatorias caracterizadas por presentar concentraciones elevadas de MMP-3. Por consiguiente, la MMP-3 no es adecuada para diagnosticar la artritis reumatoide. La MMP-3 es un marcador de la actividad de la artritis reumatoide. Las concentraciones de MMP-3 en pacientes con AR están correlacionadas con la actividad de la enfermedad en cada individuo.

11 Bibliografía

1. Y. Okada, H. Nagase, and E. D. Harris, Jr. A metalloproteinase from human rheumatoid synovial fibroblasts that digests connective tissue matrix components. Purification and characterization. *J.Biol.Chem.* 261 (30):14245-14255, 1986.
2. K. Obata, K. Iwata, Y. Okada, Y. Kohrin, E. Ohuchi, S. Yoshida, M. Shinmei, and T. Hayakawa. A one-step sandwich enzyme immunoassay for human matrix metalloproteinase 3 (stromelysin-1) using monoclonal antibodies. *Clin.Chim.Acta* 211 (1-2):59-72, 1992.
3. J. Martel-Pelletier, R. McCollum, N. Fujimoto, K. Obata, JM. Cloutier, JP. Pelletier. Excess of metalloproteases over tissue inhibitor of metalloprotease may contribute to cartilage degradation in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Lab Invest.* 70 (6):807-15, 1994.
4. S. Sasaki, H. Iwata, N. Ishiguro, K. Obata, and T. Miura. Detection of stromelysin in synovial fluid and serum from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin.Rheumatol.* 13 (2):228-233, 1994.
5. Y. Yoshihara, K. Obata, N. Fujimoto, K. Yamashita, T. Hayakawa, and M. Shimmei. Increased levels of stromelysin-1 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in sera from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 38 (7):969-975, 1995.
6. H. Yamanaka, Y. Matsuda, M. Tanaka, W. Sendo, H. Nakajima, A. Taniguchi, and N. Kamatani. Serum matrix metalloproteinase 3 as a predictor of the degree of joint destruction during the six months after measurement, in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 43 (4):852-858, 2000.
7. M. D. Posthumus, P. C. Limburg, J. Westra, M. A. Van Leeuwen, and M. H. van Rijswijk. Serum matrix metalloproteinase 3 levels during treatment with sulfasalazine or combination of methotrexate and sulfasalazine in patients with early rheumatoid arthritis. *J.Rheumatol.* 29 (5):883-889, 2002.
8. Katrib, M. D. Smith, M. J. Ahern, J. Slavotinek, L. Stafford, C. Cuello, J. V. Bertouch, H. P. McNeil, and P. P. Youssef. Reduced chemokine and matrix metalloproteinase expression in patients with rheumatoid arthritis achieving remission. *J.Rheumatol.* 30 (1):10-21, 2003.
9. Tchvetverikov, L. R. Lard, J. DeGroot, N. Verzijl, J. M. TeKoppele, F. C. Breedveld, T. W. Huizinga, and R. Hanemaaijer. Matrix metalloproteinases-3, -8, -9 as markers of disease activity and joint damage progression in early rheumatoid arthritis. *Ann.Rheum.Dis.* 62 (11):1094-1099, 2003.
10. M. J. Green, A. K. Gough, J. Devlin, J. Smith, P. Astin, D. Taylor, and P. Emery. Serum MMP-3 and MMP-1 and progression of joint damage in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology.(Oxford)* 42 (1):83-88, 2003.
11. Litinsky, D. Paran, D. Levartovsky, I. Wigler, I. Kaufman, I. Yaron, M. Yaron, D. Caspi, O. Elkayam. The effects of leflunomide on clinical parameters and serum levels of IL-6, IL-10, MMP-1 and MMP-3 in patients with resistant rheumatoid arthritis. *Cytokine.* 33 (2):106-10, 2006.
12. S. Visvanathan, M. U. Rahman, E. Keystone, M. Genovese, L. Klareskog, E. Hsia, M. Mack, J. Buchanan, M. Elashoff, and C. Wagner. Association of serum markers with improvement in clinical response measures after treatment with golimumab in patients with active rheumatoid arthritis despite receiving methotrexate: results from the GO-FORWARD study. *Arthritis Res.Ther.* 12 (6):R211, 2010.
13. Mahemara, T. Sugimoto, D. Sugiyama, S. Morinobu, G. Tsuji, S. Kawano, A. Morinobu, and S. Kumagai. Serum Matrix Metalloproteinase-3 as Predictor of Joint Destruction in Rheumatoid Arthritis, Treated with Non-biological Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs. *Kobe J. Med. Sci.* 56 (3):98-107, 2010.
14. Y. Urata, R. Uesato, D. Tanaka, Y. Nakamura, and S. Motomura. Treating to target matrix metalloproteinase 3 normalisation together with disease activity score below 2.6 yields better effects than each alone in rheumatoid arthritis patients: T-4 Study. *Ann.Rheum.Dis.*, 2011.
15. N. Nishimoto, K. Amano, Y. Hirabayashi, T. Horiuchi, T. Ishii, M. Iwahashi, M. Iwamoto, H. Kohsaka, M. Kondo, T. Matsubara, T. Mimura, H. Miyahara, S. Ohta, Y. Saeki, K. Saito, H. Sano, K. Takasugi, T. Takeuchi, S. Tohma, T. Tsuru, Y. Ueki, J. Yamana, J. Hashimoto, T. Matsutani, M. Murakami, and N. Takagi. Drug free REmission/low disease activity after cessation of tocilizumab (Actemra) Monotherapy (DREAM) study. *Mod.Rheumatol.*, 2013.
16. Hiura, S. Iwaki-Egawa, T. Kawashima, S. I. Fujisawa, T. Takeda, H. Komori, and Y. Watanabe. The diagnostic utility of matrix metalloproteinase-3 and high-sensitivity C-reactive protein for predicting rheumatoid arthritis in anti-cyclic citrullinated peptide antibody-negative patients with recent-onset undifferentiated arthritis. *Rheumatol.Int.*, 2013.

12 Símbolos reglamentarios

IVD	- Diagnosi in vitro - Pour diagnostic in vitro - In Vitro Diagnostikum - Para uso Diagnóstico in vitro	- For in vitro diagnostic use - Para uso diagnóstico in vitro - In Vitro Διαγνωστικό μέσο
REF	- Numero d'ordine - Référence Catalogue - Bestellnummer - Número de catálogo	- Catalogue number - Número de catálogo - Αριθμός παραγγελίας
LOT	- Descrizione lotto - Lot - Chargen Bezeichnung - Lote	- Lot - Lote - Χαρακτηρισμός παρτίδας
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo - Identifiant unique de l'appareil - eindeutige Produktidentifizierung - Identificador único do dispositivo	- Unique Device Identifier - Identificador único del dispositivo - Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
CE	- Conformità europea - Déclaration CE de Conformité - Europäische Konformität - Declaração CE de Conformidade	- EC Declaration of Conformity - Declaración CE de Conformidad - Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- 96 determinazioni - 96 tests - 96 Bestimmungen - 96 Testes	- 96 tests - 96 pruebas - 96 προσδιορισμοί
	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso - Voir les instructions d'utilisation électronique - Elektronische Gebrauchsanweisung beachten - Seguir as instruções electrónicas de utilização	- See electronic instructions for use - Sigla las instrucciones electrónicas de uso - Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Da utilizzarsi entro - Utiliser avant le - Verwendbar bis - Utilizar antes de	- Use by - Utilizar antes de - Χρήση μέχρι
	- Conservare a 2-8°C (35,6-46,4°F) - Conserver à 2-8°C (35,6-46,4°F) - Lagerung bei 2-8°C (35,6-46,4°F) - Conservar entre 2-8°C (35,6-46,4°F)	- Store at 2-8°C (35,6-46,4°F) - Conservar a 2-8°C (35,6-46,4°F) - Φυλάσσεται στους 2-8°C (35,6-46,4°F)
	- Prodotto da - Fabriqué par - Hergestellt von - Fabricado por	- Manufactured by - Fabricado por - Κατασκευάζεται από
CO-CAL	- Calibratore cut-off - Etalon Seuil - Grenzwert Kalibrator - Calibrador de cut-off	- Cut off Calibrator - Calibrador de cut-off - Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
CON +	- Controllo positivo - Contrôle Positif - Positiv Kontrolle - Controllo positivo	- Positive Control - Control Positivo - Θετικός ορός ελέγχου
CON -	- Controllo negativo - Contrôle Négatif - Negativ Kontrolle - Controllo negativo	- Negative Control - Control Negativo - Αρνητικός ορός ελέγχου
CAL	- Calibratore - Etalon - Kalibrator - Calibrador	- Calibrator - Calibrador - Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
CONJ	- Coniugato - Conjugué - Konjugat - Conjugado	- Conjugate - Conjugado - Σύζευγμα
MP	- Micropiastro rivestita - Microplaque sensibilisée - Beschichtete Mikrotiterplatte - Microplaca revestida	- Coated microtiter plate - Microplaca sensibilizada - Επικαλυμμένη μικροπλάκα
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio - Tampon de Lavage - Waschpuffer - Solução de lavagem	- Wash buffer - Solución de lavado - Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
SUB	- Tampone substrato - Substrat - Substratpuffer - Substrato	- Substrate buffer - Tampón sustrato - Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
STOP	- Reagente bloccante - Solution d'Arrêt - Stopreagenz - Solução de paragem	- Stop solution - Solución de parada - Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
SB 5x	- Tampone campione - Tampon Echantillons - Probenpuffer - Diluente de amostra	- Sample buffer - Tampón Muestras - Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων