

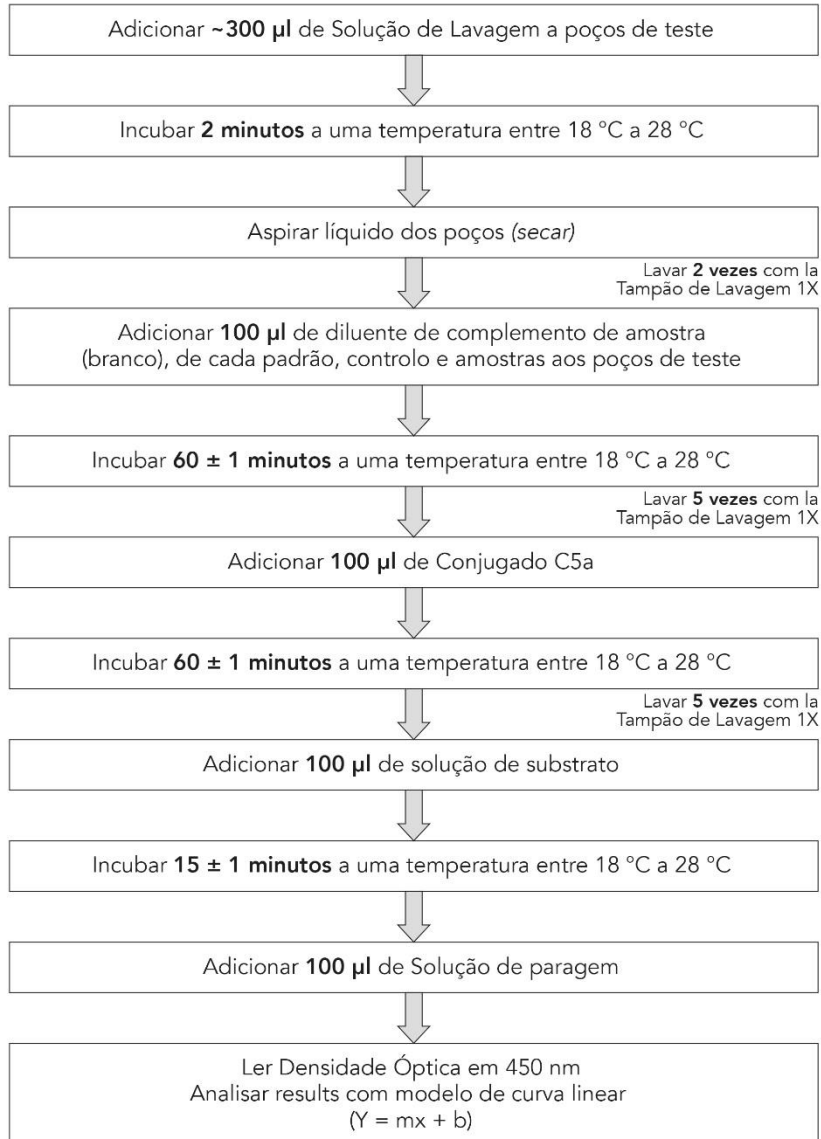
Et MicroVue-enzym immunoassay til kvantificering af C5a i humant serum eller plasma.

SUMÁRIO

Preparação do Reagent e da Amostra

- Diluir la Concentrado de Solução de Lavagem 1:20 com água desionizada.
- Diluir as Amostras de Soro 1:50 com el diluente de complemento de amostra (e.g. 10 μ L + 490 μ L).
- Diluir as amostras de plasma 1:20 com el diluente de complemento de amostra (e.g. 20 μ L + 380 μ L).

Procedimento de Ensaio





ANVENDELSESFORMÅL

Et MicroVue-enzym immunoassay til kvantificering af C5a i humant serum eller plasma.

RESUMÉ OG FORKLARING

MicroVue C5a Enzym Immunoassay er et 96 brønds, "direct-capture" immunoassay til måling af C5a i humant serum eller plasma .

Under normale omstændigheder, er aktivering af den klassiske, alternative og lectin complement pathways, resultat af dannelse af et C5 convertase multi-molekylært enzym, som kløver C5 til C5a og C5b.^{1,2} C5b er hovedaktør i "Terminal Complement Complex" og har en alsidig rolle. C5a er et lavmolekylært (ca. 9kD) protein fragment bestående af 74 amino syrer.³ C5a er hurtigt metaboliseret af serum enzymet carboxypeptidase til en mere stabil, mindre aktiv, 73 amino syre form, C5a des-Arg.^{2,3} For bekvemmelighed, vil begge former blive refereret som "C5a" i dette dokument.

MicroVue C5a assay'et, giver en hurtig, specifik og kvalitativ procedure for måling af C5a niveaueet. Er designet til undersøgelser af den rolle, eller status af terminalen supplement pathway aktivering i en lang række forsknings-indstillinger, og til overvågning af dannelse af C5a *in vivo* eller *in vitro*. Som den mest potente af complement anaphylatoxins, har C5a en lang række biologiske funktioner,² herunder mastceller degranulering, chemotaxis, luekosequestration, cellulær aktivering via binding til C5a Receptor² (C5aR eller CD88). Forskning har forbundet forhøjede niveauer af flydende fase og adsorberet C5a med Hemo-uforenelighed af nogle biomaterialer, især i ekstrakorporal circulation.⁵⁻⁹ Forskningen har også forbundet niveauer af C5a med patogenesen i en række sygdomstilstande, herunder myokardieinfarkt,¹⁰⁻¹⁴ slagtilfælde,^{15,16} samt vaskulær lækage-syndrom og tilhørende nyre-skade.¹⁷⁻¹⁹ Rollen af C5a i patogenesen af malaria²⁰ og andre smitsomme sygdomme, samt sepsis,²¹⁻²⁴ er ligeledes veldokumenteret.

PROCEDURE PRINCIP

MicroVue C5a enzymimmunanalyse er en tre-trins procedure, der benytter (1) en microassay plade med murine monoklonale antistof specifikt for et neo-epitop på humane C5a, (2) en HRP-konjugeret murine monoklonale antistoffer til C5a regionen C5, og (3) et kromogent substrat.

I det første trin, er standarder, kontroller og fortyndet prøver føjet til analyse brønde, der er belagt med et murine monoklonal antistof til C5a. Det monoklonale antistof binder sig til C5a i standarder, kontroller eller prøver. Efter inkubationstid, fjerner en vaskecyklus ubundet materiale.

I det andet trin, er horeseradish peroxidase (HRP) konjugeret murine anti-C5 (C5a) tilsat hver brønd. Det enzymkonjugeret anti-C5 (C5a) binder sig til immobiliserede C5a bundet i det første skridt. Efter inkubationstiden, fjerner en vaskecyklus det ubundet konjugat.

I det tredje trin, er 3,3', 5,5' tetramethylbenzidin (TMB), klar-til-brug, kromogent substratopløsning, føjet til analyse brøndene. De bundne HRP reagerer med substratet og danner en blå farve. Efter inkubationstiden, er reaktionen stoppet kemisk, hvilket resulterer i et farve skift fra blå til gult, hvilket bekræfter, at reaktionen har fundet sted. Farveintensiteten måles spektrofotometrisk ved A₄₅₀. Farveintensiteten af reaktionsblandingen er proportional med koncentrationen af C5a til stede i de fortyndede prøver, standarder og kontroller. Resultaterne beregnes ud fra den genererede standardkurve ved lineær regressionsanalyse.

REAGENTES E MATERIAIS FORNECIDOS

96 Assay til C5a kompleks

MicroVue C5a EIA kit indeholder følgende:

A C5a Standarder	Del 5131 – 5135	1 hver, 1,5 mL
B Klar til brug. Indeholder humant serum med tildelt C5a koncentration (ng /ml), protein stabilisatorer		
C		
D		
E		
L Lav kontrol	Del 5136	1,5 mL
Klar til brug. Indeholder humant serum med tildelt C5a koncentration (ng /ml), protein stabilisatorer		
H Høj kontrol	Del 5137	1,5 mL
Klar til brug. Indeholder humant serum med tildelt C5a koncentration (ng /ml), protein stabilisatorer		
1 Belagt Strips	Del 5129	12 cada
Otte-brønds strips belagt med murine monoklonale antistof i genlukkelig foliepose		
2 Stopopløsning	Del A9947	12 mL
Indeholder 1N (4%) Syre-Hydrochloric		
3 20X vaskeopløsnings koncentrat	Del A9957	2 cada, 50 mL
Indeholder fosfat bufferet saltvand (PBS), 1,0% Tween-20®, og 0,035% Proclin® 300		
4 Komplement prøvefortynding	Del A3670	50 mL
Indeholder PBS, 0,05% Tween-20, 2,5% Protein Stabilisatorer, 0,035% Proclin 300		
5 TMB Substrat	Del 5059	12 mL
Klar til brug. Indeholder 3,3',5,5'-tetramethylbenzidene (TMB)		
6 Konjugat	Del 5130	12 mL
Indeholder Horseradish Peroxidase-conjugeret murin monoklonal antistof mod C5a		

Tween-20® er et registreret varemærke tilhørende ICI Americas Inc.
ProClin® er et registreret varemærke tilhørende Rohm and Haas Company.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Timer (60 minutter)
- Regnemaskine eller andet beregningsudstyr til validering af analysen
- Rene, ubrugte mikroploader og/eller testrør og -stativer
- Beholder til vaskebufferfortynding
- Vaskeflaske eller andet vaskesystem til immunanalyse
- Justerbar multikanalspipette (8 eller 12 kanaler) eller repeat-mikropipetter (valgfri)
- Rene pipetter, 1 ml, 5 ml og 10 ml
- Mikropipetter og pipettespidser
- Pladelæser til optiske densitets aflæsninger mellem 0,0 og 3,0
- Demineraliseret eller destilleret vand

AVISOS E PRECAUÇÕES

- Til *in vitro* diagnostisk brug.
- Ikke til salg eller brug i USA eller Canada.
- Behandl prøver, som potentielt biologisk skadelige stoffer.
- Følg 'Universale Forholdsregler' ved håndtering af indholdet af dette kit og alle patient prøver.
- Brug de leverede reagenser som en integreret enhed, inden udløbsdatoen angivet på pakken.
- Opbevar assay reagenser som angivet.
- Brug ikke coatede strips, hvis posen er punkteret.

- Proclin 300 anvendes som konserveringsmiddel. Tilfældig kontakt med eller indtagelse af buffere eller reagenser der indeholder Proclin, kan forårsage irritation af hud, øjne eller mund. Anvend god laboratoriepraksis for at reducere eksponeringen. Søg lægehjælp, hvis der er symptomer.
- Stopopløsning betragtes som ætsende og kan forårsage irritation. Må ikke indtages. Undgå kontakt med øjne, hud og tøj. Hvis kontakt, skyl straks berørte område med vand. Ved indtagelse, ring til en læge.
- Hver enkelt donor, der anvendes i udarbejdelsen af standarder og kontrol sera af dette produkt er blevet testet af en FDA-godkendt metode, for tilstedeværelse af antistof mod human immundefekt virus (HIV 1 og HIV2) og hepatitis C-virus, såvel som for hepatitis B overflade-antigen. Da ingen testmetode kan give fuldstændig sikkerhed for, at smittefarlige stoffer ikke er til stede, skal disse reagenser behandles på biosikkerhed niveau 2 som anbefalet for alle potentielt infektiøse human serum eller blodprøve i Centers for Disease Control / National Institutes of Health manual "Biosafety i Mikrobiologiske og Biomedical Laboratories," 2007.
- Brug af multikanal pipetter eller gentage pipetter anbefales.
- For nøjagtig måling af prøver, tilføj prøver og standarder præcist. Pipetter grundigt ved hjælp af kalibreret udstyr.
- Korrekt indsamling og opbevaring af prøveemner er afgørende for nøjagtige resultater (se *MODELLEN HÅNDBOG OG TILBEREDNING*).
- Undgå mikrobiel eller krydskontaminering af prøver eller reagenser.
- Test hver prøve i dublikat.
- Brug ikke en brønd til mere end én test.
- Andre inkuberingstider og temperaturer end dem, der er angivet i afsnittet *TESTMETODE*, kan give fejlagtige resultater.
- TMB Substrat skal beskyttes mod lys under opbevaring og inkubation. Undgå kontakt med øjne, hud og tøj. Hvis kontakten er lavet, straks skylles berørte område med vand.
- Tillad ikke microassay brønde at tørre, når analysen er begyndt.
- Når du fjerner væske fra microassay brønde, skrab eller rør ikke i bunden af brøndene.
- Varmeinaktiveres, hyperlipemic, eller forurenede prøver kan give fejlagtige resultater.
- For at undgå aerosoldannelse under vask, brug et apparat til at suge vask væske i en flaske med blegemiddel til husholdningsbrug.
- En vaskeflaske eller automatisk påfyldning enhed skal bruges til at vaske pladen (*TESTMETODE*, Trin 8). For det bedste resultat, skal du ikke bruge en multikanalpipette at vaske microassay plade med.
- Testning skal udføres i et område med tilstrækkelig ventilation.
- Bortskaf beholdere og ubrugt indhold i henhold til gældende kliniske retningslinjer for bortskaffelse af biologisk farligt materiale.
- Bær egnet beskyttelsestøj, handsker og øjen/ansigtsbeskyttelse ved håndtering af indholdet i dette kit.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering.
- For yderligere oplysninger om faresymboler, sikkerhed, håndtering og bortskaffelse af komponenterne i dette kit henvises til sikkerhedsdatabladet (SDS), der findes på quidel.com.

OPBEVARING

Opbevar det uåbnede kit ved 2 °C til 8 °C. **Bring reagenser og materialer udvalgt til brug til 18 °C til 28°C før brug.**

Læg alle ubrugte brøndstripholdere i opbevaringspose, tilluk posen, og opbevar ved 2 °C til 8 °C.

TEGN PÅ USTABILITET ELLER FORRINGELSE AF REAGENSER

Uklarhed eller misfarvning af den fortyndede vaskeopløsning, indikerer en forringelse af reagenset. Hvis dette sker, skal opløsningen kasseres.

PRÆPARATHÅNDBOG OG FORBEREDELSE

Håndtering og bortskaffelse af alle prøver, se "Universal Forholdsregler."

Alle prøvehåndtering skal udføres ved 2 °C til 8 °C.

Prøvetagning

Korrekt indsamling, behandling, og opbevaring af prøver er afgørende, da C5a kan genereres i forkert håndteret prøver.

Værdier for normale serumprøver vil typisk være højere end dem, der opnås med EDTA eller citrat behandlet normale plasmaprøver. C5a niveau i EDTA eller citrat-plasma kan derfor mere præcist repræsentere in vivo koncentrationer.²⁵

Serum, EDTA, eller citratplasma prøver skal indsamles aseptisk, ved hjælp af standard teknikker.²⁶ Prøverne bør testes straks eller opbevares ved 4°C, eller på is i længere tidsrum end fire timer, før de analyseres.

Hvis prøven ikke kan testes inden for fire timer i henhold til retningslinjer beskrevet ovenfor, bør prøverne fryses ved -70 °C eller mindre.

Prøve Stabiliserende Opløsning (Nr A9576) kan også bruges til, at forberede human serum og plasma prøver til opbevaring. Korrekt brug af dette produkt, er tilgængelig fra Quidel, der kræves, at prøven blandes 1:1 inden frysning. Yderligere tekniske oplysninger om denne løsning er til rådighed efter anmodning.

Optøning af frosne prøver

Optø frosne prøver hurtigt ved 37 °C. Overfør straks optøede prøver til is (ikke længere opbevaring end otte timer) for at forhindre komplement-aktivering inden fortynding. **Lad ikke prøver stå ved 37 °C**, da komplement aktivering kan forekomme. Optø ikke prøver ved stuetemperatur eller på is, da dette kan føre til C5 aktivering og påvirke resultaterne. Prøver bør testes hurtigst muligt efter optøning. Op til maks. 3 fryse/tø cykler kan udføres uden at påvirke prøverne. Hvis prøverne har brug for yderligere frysning for yderligere analyse, anbefaler Quidel frysning af flere portioner af prøverne for, at forhindre flere fryse/tø-cykler.

Prøve Fortynding

FORSIGTIG: Behandl alle prøver som potentielt farlige. Brug 'Universal Forholdsregler'. Brug ikke varme-inaktiverede, forurenede, eller forkert opbevarede prøver.

BEMÆRK: Se PRØVETAGNING OG OPBEVARING for vigtige notater om de rigtige metoder til, at optø frosne prøver. Korrekt håndtering af prøver er afgørende for nøjagtige resultater.

Quidel anbefaler, at normale plasmaprøver fortyndes 1:20 i henhold til 'Specimen Diluent'; serumprøver skal fortyndes 1:50. En 1:200 fortynding eller derover, kan være nødvendig for en prøve med højt C5a niveau. Prøverne **skal** fortyndes, således, at A_{450} værdier er over LLOQ og ikke overstiger A_{450} værdien af C5a Standard E. Prøver med A_{450} målinger uden for dette interval bør re-analyseres på en ny fortynding.

Bestem antallet (N) af prøver, der skal testes. Mærk reagensglas #1 til #N, og registrer hvilke prøver der svarer til hvert glas. Lav en passende fortynding (se foregående afsnit) for hver enkelt prøve med 'Specimen Diluent'. Bland grundigt, men undgå dannelse af skum og bobler. Opbevar eller genbrug ikke fortyndede prøver.

Tilsætning af Fortyndet Prøver til mikrotiter brønde.

Tilsætning af fortyndede prøver til mikrotiter brønde skal være afsluttet indenfor 15 minutter efter anvendelsen af den første prøve. En af de to metoder kan anvendes til at tilsætte fortyndede prøver, standarder, kontroller og buffer, til brøndene (se trin 6 i *TESTMETODE*). For små assay test, hvor kun nogle få prøver skal testes, kan de fortyndede prøver og andre reagenser tilsættes direkte til deres tildelte brønde med en mikropipette (100 µL/brønd). For små eller store test, specielt større test, anbefaler vi brugen af en multikanalpipette.

Tilsæt standarder, kontroller og fortyndede prøver til microassay brønde, så hurtigt som muligt, en "kopi plade" procedure kan anvendes. I stedet for at tilsætte 100 µL af hver standard, kontrol eller fortyndet prøve til de antistof-coatede brønde individuelt, kan 120-130 µL af hver løsning tilføjes de enkelte brønde i en blank plade (medfølger ikke) svarende til den endelige EIA ønskede mønster. Efter at alle opløsninger, der skal testes, er blevet tilføjet til microassay brønde i den blanke plade, overfør hurtigt 100 µL fra hver tomme brønd til de antistof-coatede brønde med en multikanal micropipette. For at undgå mulig krydskontaminering, skal pipettespidser skiftes hver gang, der sker en ændring i sammensætningen af prøven, der skal overføres.

"Kopi plade" procedure kan også anvendes til at tilføje konjugat, substrat, og stopopløsning.

REAGENSFORBEREDELSE

Bring alle reagenser og materialer til 18 °C til 28 °C før brug. Efter fjernelse af de nødvendige reagenser og materialer, returnér ubrugte varer i deres passende lagrings temperaturer (se *OPBEVARING*).

1. Standarder og kontroller

Standarder og kontroller kræver ikke fortynding eller forberedelse forud for brug.

2. Vaskeopløsning

Bland 20X vaskeopløsning koncentrat ved, at vende flasken flere gange. Hvis 20X vaskeopløsning koncentrat er blevet opbevaret ved 2 °C til 8 °C, kan krystallerne blive dannet. For at opløse krystaller, varm flasken i et 37°C til 50 °C vandbad, indtil alle krystallerne er opløst, bland grundigt. Forbered vaskeopløsning ved fortynding af hele indholdet, med en af de 20X vaskeopløsning koncentrat, op til en liter, med destilleret eller deioniseret vand. Bland grundigt. Vaskeopløsningen er stabil i 30 dage, når den opbevares i en ren beholder ved 2 °C til 8 °C. Hvis misfarvning eller uklarhed opstår, kasseres reagenset.

3. Valg af mikroanalysestrips

Bestem antallet af brønde der er nødvendige for analysen. Det anbefales, at de tomme brønde, kontroller og standarder, testes i duplikat. Fjern overflødige strips og placér dem i opbevaringsposen, tilluk posen, og opbevar ved 2 °C til 8 °C. Tryk de strips der skal benyttes grundigt ned.

TESTMETODE

Læs hele indlægssedlen inden analysen påbegyndes.

Se *REAGENT FORBEREDELSE* og *ADVARSLER SAMT FORHOLDSREGLER*.

1. Registrér brønd positioner, der svarer til den tomme prøve, alle prøver, standarder og kontroller samt angivet lot numre fra rørene. Markér det ene hjørne af pladen for orientering af pladen.
2. Forbered microassay strimler som:
 - a. Rehydrer microassay brønde ved at tilføje cirka 300 µL af vaskeopløsning til hver brønd med en vaskeflaske eller automatisk påfyldning enhed.
 - b. Inkubér ved 18°C til 28 °C i to minutter.
 - c. Fjern væsken fra hver brønd.
 - d. Tilsæt ca. 300 µL vaskeopløsning til hver brønd.
 - e. Fjern væsken fra hver brønd.
 - f. **Gentag trin d-e endnu en gang, til i alt tre gange vask.**
 - g. Vend pladen og tryk fast på absorberende papir to gange for at fjerne resterende væske.
3. Vælg en eller flere brønde til at fungere som tom. Tilsæt 100 µL af prøvefortynder til brønd(e) der bliver anvendt som blank.
4. Tilsæt 100 µL af hver C5a Standard (A, B, C, D, E) i duplikat.
BEMÆRK: Standarder er klar til brug og behøver ikke fortynding.
5. Tilsæt 100 µL af både C5a Lav kontrol og C5a Høj kontrol i duplikat.
BEMÆRK: Kontrollen er klar til brug og behøver ikke fortynding.

6. Tilsæt 100 µL af hver fortyndet prøve til sin tildelte microassay brønd. (Se PRØVEFORTYNDING).
7. Inkubér ved 18°C til 28 °C i 60 ± 1 minutter.
8. Vask microassay brønde som følgende:
 - a. Efter inkubation i trin 7 (eller i trin 10 nedenfor) fjern væsken fra hver brønd.
 - b. Tilsæt ca. 300 µL vaskeopløsning til hver brønd med en vaskeflaske, eller automatisk påfyldning enhed.
 - c. Fjern væsken fra hver brønd.
 - d. **Gentag trin b-c yderligere fire gange.**
 - e. Efter den femte vaskecyklus vendes pladen, og tryk fast på absorberende papir to gange for at fjerne den resterende væske.
9. Ved hjælp af en multikanals eller gentage pipette, dispenser 100 µL af C5a konjugat i hver vasket testbrønd, herunder blindprøvebrønd (r).
10. Inkubér microassay strips ved 18 C til 28 °C i 60 ± 1 minutter.
11. Vask microassay brønde efter de 60 minutter inkubation (trin 10), som beskrevet under *TESTMETODE*, trin 8.
12. Umiddelbart efter vaske proceduren, dispenser 100 µL af substratopløsning i hver brønd, herunder tomme.
13. Inkubér microassay strips ved 18 C til 28 °C i 15 (± 1) minutter.
14. Tilsæt 100 µL af stopopløsning til hver brønd for, at stoppe den enzymatiske reaktion. Stopopløsningen bør tilføjes til brøndene i samme rækkefølge, og i samme takt som substratopløsning. Bank forsigtigt på pladen for at sprede farveudviklingen jævnt.
BEMÆRK: Optimale resultater kan opnås ved hjælp af pladelæser's auto-mix funktion (hvis den findes) lige inden aflæsning af pladen.
15. Absorbans bestemmes ved læsning ved 450 nm (A_{450} værdi) for hver test og inden for 60 minutter, efter tilsætning af Stopopløsning (trin 14), foretag de nødvendige blank korrektioner.
16. Bestem koncentrationen af prøver og kontroller fra standardkurven.
17. Afhænde de resterende fortyndede prøver og kontroller, og de anvendte microassay strips (se *ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER*).

KVALITETSKONTROL

God laboratoriepraksis anbefaler brugen af kontroller for at sikre, at analysen fungerer korrekt. Hvert C5a kit indeholder Høj og Lav-kontroller der kan anvendes til dette formål. Kontrol intervaller er oplyst. Kontrol værdier er beregnet for, at verificere validiteten af kurve og prøveresultater. Hvert laboratorium bør etablere sine egne parametre for acceptable assay grænser. Hvis kontrol værdier IKKE er indenfor de acceptable grænser, bør analyse resultaterne betragtes tvivlsomme, og prøverne skal gentages. Derudover kræver indlægssedlen, at standardkurve genereret med kittets Standarder, opfylder strenge validerings krav. Hvis analysen ikke opfylder disse krav, gentag analysen, eller kontakt 'Quidel Technical Service.'

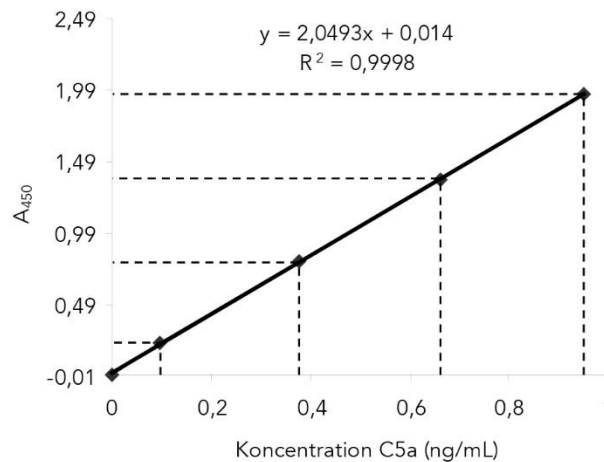
Certificat af Analysen er inkluderet i dette kit, og er meget lot specifikke, og benyttes til, at kontrollere, at de opnåede resultater af dit laboratorium svarer til dem, der opnås ved Quidel Corporation.

FORTOLKNING AF RESULTATER

Beregning af resultater

Brug af standardkurven: Standardkurven for C5a EIA genereres ved hjælp af tomme brøde A_{450} værdier for hver standard (på y-aksen), og den tildelte koncentration for hver standard (på x-aksen). Standardkurven skal opfylde valideringskravene. De fleste computere og regnemaskiner er i stand til at udføre disse beregninger. Et eksempel på en typisk standard kurve er vist i Figur 1.

Figura 1
Repræsentativ Standardkurve



Prøve	A450	ng/mL
Standard A	-0,001	0
Standard B	0,225	0,095
Standard C	0,789	0,378
Standard D	1,369	0,661
Standard E	1,965	0,953
r = 0,9998	m = 2,0493	b = 0,014

Beregning af de faktiske C5a koncentrationer i prøverne

De tildelte koncentrationer på standard og kontrol rørerne er i absolutte enheder for C5a komplekset. Koncentrationen af C5a i en prøve bestemmes ved at multiplicere den målte koncentration af den relevante prøve fortyndingsfaktoren. For eksempel, hvis en EDTA-plasma prøve er fortyndet 1:20, og den lineære regression kurve giver en koncentration på 0,5 ng C5a/mL, så er koncentrationen af C5a i prøven 10 ng C5a/mL (eller 20 x 0,5).

For at opnå nøjagtig C5a koncentration bestemmelser for prøverne, der giver A_{450} værdier større end C5a Standard E (eller værdier mindre end LLOQ), bør prøverne genanalyseres i en anden fortynding, så deres nye A_{450} værdier vil være inden for disse grænser. I alle gentagne assayskal C5a standarder og kontroller også testes igen.

Validering

Bestem hældning, skæring, og korrelationskoefficienten af de afledte best-fit linjer for C5a A, B, C, D og E-standarder. Værdierne skal ligge inden for de angivne intervaller for at kvalificere analysen:

korrelation koefficient (r):	> 0,98
hældning (m):	1,14 – 2,50
y-skæring(b):	(-)0,0145 til (+)0,0532

Se label på vials for det accepterede C5a interval for lav og høj kontrol.

BEGRÆNSNINGER

MicroVue C5a Enzym Immunoassay har været brugt til, at teste serum eller plasma i EDTA samt citrat. Andre antikoagulanter har ikke været testet.

OBSERVERET VÆRDIER

EDTA plasma og serum fra tyve (20) normale og sunde donorer blev testet i MicroVue C5a Enzyme Immunoassay kittet. Resultaterne ses herunder.

	n	Gennemsnit	Interval
EDTA Plasma	20	20,65 ng/mL	0,37 til 74,33 ng/mL
Serum	20	50,09 ng/mL	13,37 til 179,23 ng/mL

BEMÆRK: C5a koncentrationer bestemmes for plasma eller serum prøver kan variere mellem laboratorier, og derfor anbefales det, at hvert laboratorium fastlægge sit eget koncentrationsinterval. Koncentrationerne angivet ovenfor bør alene betragtes som en retningslinje.

UDFØRELSE AF FORSØGET

Grænseværdier

LOD: Detektionsgrænsen (LOD) for C5a assayet er 0,01 ng /mL, bestemmes af den øvre 3SD grænse i en nul-standard undersøgelse.

LLOQ: Den nedre grænse for kvantificering (LLOQ) af C5a analysen er 0,050 ng /mL, hvilket er den laveste koncentration på standardkurve, der opfylder NCCLS kriterier for nøjagtighed og præcision.

Forstyrrende stoffer

Følgende stoffer blev testet i C5a analyse og ikke fundet at interferere med analysen:

Substans	Koncentration
Bilirubin	40 mg/dL
Hæmoglobin	500 mg/dL
Triglycerider	3000 mg/dL
Na + Heparin	14 U/mL
C5 Protein	80 mg/L
Glucose	1200 mg/dL
Kolesterol	500 mg/dL

Rene prøver med et niveau af albumin > 118,6 mg /mL eller gammaglobulin > 8,9 mg /dL, har vist sig at interferere med kvantiteten i analysen, og skal fortyndes i overensstemmelse hermed.

Præcision

'Indenfor-kørsel' og 'mellem-kørsel' præcision blev bestemt ved metode til påvisning af 20 dublikater af 2 plasmaprøver og 2 serumprøver i 10 forskellige kørsler.

Prøve	C5a (ng/mL)	Indenfor kørsel ¹ C.V. (%)	Mellem kørsler ² C.V. (%)
EDTA Plasma	12,34	3,8	9,9
	1,41	3,9	13,0
Serum	30,13	3,6	7,1
	21,92	3,5	7,8

¹n = 20 replicater ²n = 10 kørsler

Linearitet

Linearitet var udført ved seriel fortynding af prøver med prøvediluent, og de sammenlignede observerede værdier sammenholdt med de forventede.

Prøve	Fortyndings faktor	Observeret C5a (ng/mL) ³	Forventet C5a (ng/mL) ³	Genfindelse (%)
EDTA Plasma	10	1,214	1,266	96
	20	0,667	0,633	105
	40	0,343	0,317	108
	80	0,164	0,158	103
	160	0,077	0,079	98
Serum	25	0,873	0,864	99
	50	0,465	0,432	93
	100	0,236	0,216	92
	200	0,115	0,108	94
	400	0,054	0,054	100

³Fortyndingsfaktor ikke inkluderet

ASSISTANCE

For tjenester uden for USA, bedes du kontakte din lokale forhandler. Yderligere oplysninger om Quidel og Quidel's produkter og forhandlere, kan findes på vores hjemmeside quidel.com.

REFERENCER

1. Tack, Brian F., Sam C. Morris, and James W. Prah. "Fifth component of human complement: purification from plasma and polypeptide chain structure." *Biochemistry* 18(8) (1979): 1490-1497.
2. Guo, Ren-Feng and Peter A. Ward. "Role of C5a in Inflammatory Responses." *Annu. Rev. Immunol.* 23 (2005): 821-852.
3. Hugli, T. E. "Biochemistry and biology of anaphylatoxins." *Complement* 3(3) (1986): 111-127.
4. Yancey, K. B. "Biological properties of human C5a: selected in vitro and in vivo studies." *Clin. Exp. Immunol.* 71 (1988): 207-210.
5. Hoenich, Nicholas A. and Kostas P. Katopodis. "Clinical characterization of a new polymeric membrane for use in renal replacement therapy." *Biomaterials* 23(18) (2002): 3853-3858.
6. Christine S. Rinder et al. "Selective blockade of membrane attack complex formation during simulated extracorporeal circulation inhibits platelet but not leukocyte activation." *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 118(3) (1999): 460-466.
7. Smith, Brian Richard, Henry M. Rinder, and Christine S. Rinder. "Interaction of Blood and Artificial Surfaces." *Thrombosis and Hemorrhage, 3rd ed.* Eds. J. Loscalzo and A. I. Schafer. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 865-885.
8. Yvan Gasche et al. "Complement depletion during haemofiltration with polyacrylonitrile membranes." *Nephrol. Dial. Transplant* 11 (1996): 117-119.
9. Claudia Sperling et al. "In vitro blood reactivity to hydroxylated and non-hydroxylated polymer surfaces." *Biomaterials* 2007, doi:10.1016/j.biomaterials.2007.04.041.
10. Frangogiannis, Nikolaos G., Wayne C. Smith, and Mark L. Entman. "The inflammatory response in myocardial infarction." *Cardiovascular Res.* 53 (2002): 31-47.
11. Walter S. Speidl et al. "Complement component C5a predicts future cardiovascular events in patients with advanced atherosclerosis." *Euro. Heart Journal* 26 (2005): 2294-2299.
12. Langlois, Paul F. and Maria S. Gawryl. "Detection of the terminal complement complex in patient plasma following acute myocardial infarction." *Atherosclerosis* 70 (1988): 95-105.
13. Jawed Fareed et al. "Useful laboratory tests for studying thrombogenesis in acute cardiac syndromes." *Clin. Chem.* 48(8) (1998): 1845-1853.
14. Antti P. Vakeva et al. "Myocardial infarction and apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion: Role of the Terminal Complement Components and inhibition by anti C5 therapy." *Circulation* 97 (1998): 2259-2267.
15. Thiruma V. Arumugam et al. "Intravenous immunoglobulin (IVIg) protects the brain against experimental stroke by preventing complement-mediated neuronal cell death." *PNAS* 104(35) (2007): 14104-14109. doi:10.1076/pnas.0700.506.104.
16. Van Beek, Johan, Kristina Elward, and Philippe Gasque. "Activation of Complement in the Central Nervous System: Roles in Neurodegeneration and Neuroprotection." *Ann. NY Acad. Sci.* 992 (2003): 56-71.

17. Sheerin, N. S. and S. H. Sacks. "Leaked protein and interstitial damage in the kidney: is complement the missing link?" *Clin. Exp. Immunol.* 130 (2002): 1-3.
18. T. R. Welch et al. "C5a is important in the tubulointerstitial component of experimental immune complex glomerulonephritis." *Clin. Exp. Immunol.* 130 (2002): 43-48.
19. Thomas Muller et al. "Detection of renal allograft rejection by complement components C5a and TCC in plasma and urine." *J. Lab. Clin. Med.* 129 (1997): 62-71.
20. A. Conroy et al. "C5a Enhances Dysregulated Inflammatory and Angiogenic Responses to Malaria In Vitro: Potential Implications for Placental Malaria." *PLoS ONE* 4(3) 2009: e4953. doi:10.1371/journal.pone.0004953.
21. A. Bengtsson et al. "Anti-TNF Treatment of Baboons with Sepsis Reduces TNF- α IL-6 and IL-8, but not the Degree of Complement Activation." *Scand. J. Immunol.* 48 (1998): 509-514.
22. Haas, Pieter-Jan and Jos van Strijp. "Anaphylatoxins: Their Role in Bacterial Infections and Inflammation." *Immunol. Res.* 37(3) (2007): 161-175.
23. Ren-Feng Guo et al. "In vivo regulation of neutrophil apoptosis by C5a during sepsis." *J. Leukoc. Biol.* 80(6) (2006): 1575-1583.
24. Ward, Peter A. "Role of the complement in experimental sepsis." *J. Leukoc. Biol.* 83(3) (2008): 467-470.
25. Mollnes, T. E., P. Garred, and G. Bergseth. "Effect of time, temperature and anticoagulants on in vitro complement activation: consequences for collection and preservation of samples to be examined for complement activation." *Clin. Exp. Immunol.* 73(3) (1988): 484-488.
26. Centers for Disease Control. "Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings." *MMWR.* 1987 36 (suppl. No. 2S):001.

REF A025 – MicroVue C5a EIA Kit

IVD



EC REP

MDSS GmbH
 Schiffgraben 41
 30175 Hannover,
 Germany



Quidel Corporation
 2005 East State Street, Suite 100
 Athens, OH 45701 USA
 quidel.com

PIA025001DA00 (02/17)

GLOSSÁRIO

REF

Katalognummer



CE-mærket for overensstemmelse

EC REP

Autoriseret repræsentant i det Europæiske

LOT

Batch-code



Anvendes inden



Producent



Temperaturbegrænsning



Tilsigtet anvendelse



Konsultere brugsanvisningen e-mærkning af

IVD

Til *in vitro* diagnostisk anvendelse



Indeholder nok til 96 bestemmelser

CONT

Inghold/Indeholder

CONTROL

Prøve
