

En enzymimmunanalis för kvantifiering av C4a-fragment i komplementprotein C4 i humant serum eller plasma

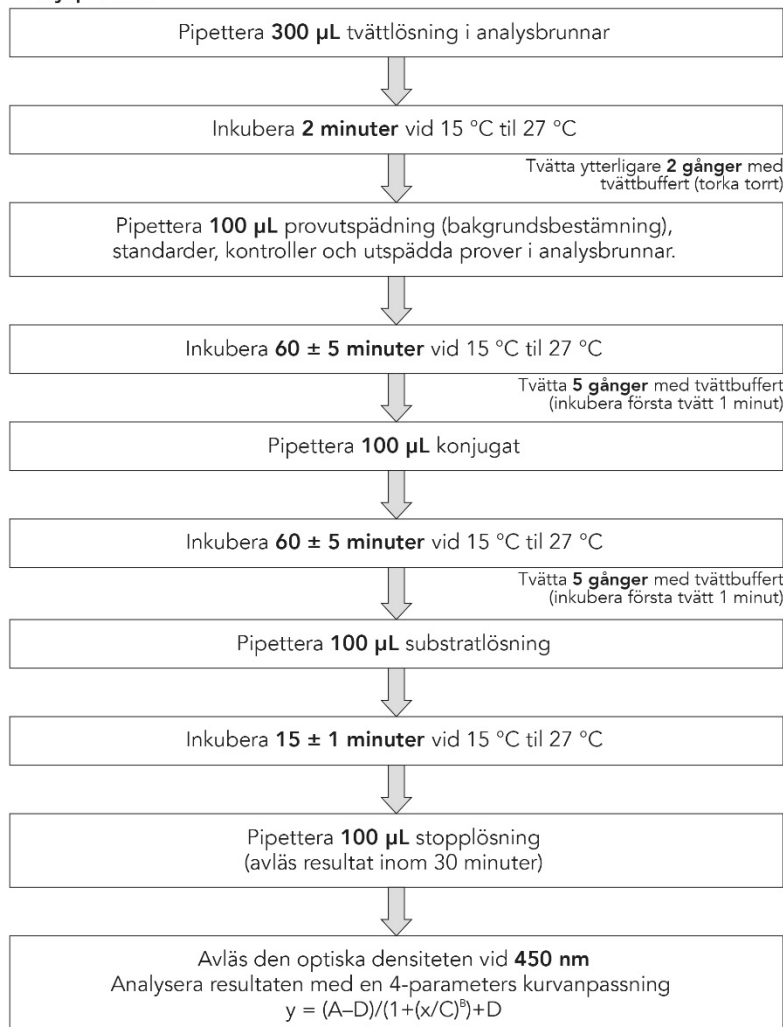
Endast för *in vitro*-diagnostik. Endast för export. Ej för försäljning eller användning i USA eller Kanada.

SAMMANDRAG

Reagens, standarder, kontroller och provförberedelse

- Späd tvättbuffertkoncentrat 1:20 med destillerat vatten
- Späd plasmaprover 1:40 med provutspädning (t. ex. 10 µL prov + 390 µL utspädningsvätska)
- Späd serumprover 1:80 med provutspädning (t. ex. 10 µL prov + 790 µL utspädningsvätska)

Analysprocedur





AVSEDD ANVÄNDNING

MicroVue C4a enzymimmunanalyssats mäter mängden komplementfragment C4a, ett aktiveringsfragment i komplementprotein, C4 i human- och primatplasma eller -serum. Mätning av C4a i humanplasma eller -serum ger bevis på inblandning av klassisk eller lektinväg i komplement.

SAMMANDRAG OCH FÖRKLARING

MicroVue C4a enzymimmunanalys är en 96 brunnars, direktinhämtnings (direct-capture) immunanalys för mätning av C4a i human- eller primatserum, -plasma och andra biologiska eller experimentella prover. Under normala förhållanden resulterar aktivering av de klassiska eller lektinkomplementvägarna i klyvning av komplementproteinet C4 till C4a och C4b av proteaset C1s. C4a klyvs snabbt till sin mer stabila, mindre aktiva form C4a-des Arg av endogent serumkarboxipeptidas-N-enzym. Följaktligen bör kvantifiering av C4a-des Arg ge ett pålitligt mått av klassisk eller lektinkomplementvägsaktivering som inträffat i testproven.¹⁻⁴

MicroVue C4a-analysen, en snabb, mycket noggrann och kvantitativ procedur för mätning av C4a-nivåer, har konstruerats för undersökningar av rollen eller statusen hos komplementvägsaktivering i ett stort antal forskningssammanhang, och för övervakning av generering av C4a *in vivo* eller *in vitro*. C4a är den svagaste av anafylatoxinerna jämfört med C3a och C5a, men det spelar en roll vid skapandet av vaskulära genomsläpplighetsförändringar, induktionen av kontraktioner i glatt muskulatur och frigöring av histamin från mastceller och basofiler. C4a antas spela en roll i flera autoimmuna sjukdomar inklusive reumatoid artrit, systemisk lupus erythematosus och akut glomerulonefrit.⁵⁻¹⁵ Det har nyligen implicerats som en markör för både akut och kronisk Lyme-borreliosis.¹⁶⁻¹⁷

PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue C4a enzymimmunanalys för kvantifieringen av C4a i humanplasma eller -serum är en trestegsprocedur som utnyttjar (1) en mikroanalysplatta som är ytbelagd med monoklonal mus-antikropp som särskilt binds vid humant C4a, (2) en med HRP-konjugat försedd monoklonal anti-human C4a-antikropp och (3) ett kromogent substrat.

I steg ett tillsätts standarder, kontroller och testprover till mikroanalysbrunnar ytbelagda med en specifik monoklonal antikropp mot C4a. C4a, men inte C4 eller andra komplementaktiveringsprodukter, som finns i proven binds vid den immobiliserade monoklonala antikroppen mot C4a. Efter inkubation tar en tvätt bort obundet material.

I steg 2 tillsätts pepparrotsperoxid (HRP)-konjugerad monoklonal anti-human C4a-antikropp i varje testbrunn. Den enzymkonjugerade anti-humana C4a-antikroppen binds vid C4a som infångats i mikroanalysbrunnarna. Efter inkubation tar en tvätt bort obundet, överflödigt konjugat.

I steg 3 tillsätts ett kromogent enzymsubstrat till varje mikroanalysbrunn. Det bundna HRP-konjugatet reagerar med substratet, vilket ger en blå färg. Efter inkubation stoppas enzymreaktionen kemiskt, färgen ändras till gult, och färgintensiteten mäts spektrofotometriskt vid 450 nm. Reaktionsblandningens färgintensitet är proportionell med den C4a-koncentration som finns i testproven, standarderna och kontrollerna.

INGÅENDE REAGENSER OCH MATERIAL

96 analyser för C4a-fragment i komplementprotein C4

MicroVue C4a enzymimmunanalyssats innehåller följande:

- | | | |
|--------------------------------------|--|-----------------------|
| A C4a-standarder | Art. 5204 – 5208 | 1,5 mL vardera |
| B | Färdigt för användning. Var och en innehåller renat nativt humant C4a-protein med en tilldelad | |
| C | proteinkoncentration (ng/mL), proteinstabilisatorer | |
| D | | |
| E | | |
| L C4a låg kontroll | Art. 5209 | 1,5 mL |
| | Färdigt för användning. Innehåller renat nativt humant C4a-protein med en tilldelad koncentration | |
| | (ng/mL), proteinstabilisatorer | |
| H C4a hög kontroll | Art. 5210 | 1,5 mL |
| | Färdigt för användning. Innehåller renat nativt humant C4a-protein med en tilldelad koncentration | |
| | (ng/mL), proteinstabilisatorer | |
| ① Mikroanalysplatta | Art. 5198 | 12 x 8 brunnar |
| | Åttabrunnsremсор belagda med murin monoklonal antikropp specifik för humant C4a i en | |
| | återförslutningsbar foliepåse | |
| ② Stopplösning | Art. A9947 | 12 mL |
| | Innehåller 1N (4 %) saltsyra | |
| ③ 20X tvättlösningskoncentrat | Art. A9957 | 2 var, 50 mL |
| | Innehåller fosfatbuffrad saltlösning (PBS), 1,0 % Tween-20® och 0,035 % ProClin® 300 | |
| ④ Komplementprovutspädning | Art. A3670 | 50 mL |
| | Innehåller PBS, 0,05 % Tween-20, 2,5 % proteinstabilisatorer, 0,035 % ProClin 300 | |
| ⑤ TMB-substrat | Art. 5059 | 12 mL |
| | Färdigt för användning. Innehåller 3,3',5,5'-tetrametylbensidin (TMB) och väteperoxid (H ₂ O ₂) | |
| ⑥ Konjugat | Art. 5211 | 12 mL |
| | Innehåller pepparrotperoxid-konjugerad monoklonal anti-human C4a-antikropp suspenderad i HRP- | |
| | stabiliserande buffert med konserveringsmedel | |
- Tween-20® är ett registrerat varumärke som tillhör ICI Americas Inc.
ProClin® är ett registrerat varumärke som tillhör Rohm and Haas Company.

MATERIEL SOM KRÄVS MEN INTE MEDFÖLJER

- Timer (60-minutersintervall)
- Rena, oanvända mikroanalysplattor, 96-brunnsspädningsplatta och/eller provrör och ställ
- Behållare för tvättbuffertlösning
- Tvättflaska eller annat godkänt tvättsystem för immunanalys
- Mikropipetter och sterila pipettspetsar för engångsanvändning
- Justerbar multikanalpipett (8 eller 12 kanaler) eller repetermikropipetter
- Rena pipetter, 1 mL, 5 mL och 10 mL
- Reagensbehållare för tillsättning av konjugat, substrat och stopplösning till plattan (använd rena, obegagnade behållare för varje reagens)
- Plattavläsare som klarar av A₄₅₀ avläsningar mellan 0,0 och 3,0
- Avjoniserat eller destillerat vatten

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Endast för *in vitro*-diagnostik.

- Behandla proverna som potentiellt biologiskt riskmaterial. Följ vedertagna försiktighetsåtgärder vid hantering av innehållet i denna sats och alla patientprover.
- Använd medföljande reagenser som en integrerad enhet före det utgångsdatum som anges på förpackningens etikett.
- Förvara analysreagenser enligt anvisningarna.
- Använd inte de belagda remsorna om påsen har punkterats.
- ProClin 300 används som konserveringsmedel. Oavsiktlig kontakt med eller intagande av buffertar eller reagenser som innehåller ProClin kan orsaka irritation på huden, i ögonen eller i munnen. Använd god laboratoriepraxis för att minska exponering. Sök läkarhjälp om du erfar dessa symtom.
- Stopplösningen anses vara korrosiv och kan orsaka irritation. Får inte förtäras. Undvik kontakt med ögon, hud och kläder. Om kontakt inträffar, ska det berörda området omedelbart sköljas med vatten. Kontakta läkare vid förtäring.
- Varje donatorenhet som används vid beredning av standarder och kontroller av denna produkt har testats av en FDA-godkänd metod för detektion av antikropp mot humant immunbristvirus (HIV1 och HIV2) och hepatit C-virus, så väl som ytantigen för hepatit B. Eftersom det inte existerar någon testmetod som garanterar total avsaknad av biologiska smittämnen, skall dessa reagenser hanteras enligt biosäkerhetsnivå 2 enligt vad som rekommenderas för allt potentiellt smittat humant serum eller blodprov i Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories".¹⁸
- Användning av multikanalspipetter eller repeterpipetter rekommenderas för att garantera tidsbestämd tillförsel av reagenser.
- Tillsätt prover och standarder exakt för korrekt mätning av prover. Pipettera noggrant och använd endast kalibrerad utrustning.
- Rätt provtagning och förvaring av testprover är avgörande för korrekta resultat (se *PROVHANTERING OCH BEREDNING*).
- Undvik mikrobiell kontaminering eller korskontaminering av prover eller reagenser.
- Testa varje prov i duplikat.
- Använd inte en enskild mikroanalysbrunn för mer än ett test.
- Om andra inkubationstider och temperaturer än de som anges i proceduravsnittet används, kan det resultera i felaktiga resultat.
- TMB-substratet måste skyddas för ljus och från kontakt med metall eller gummi under förvaring och inkubation. Undvik kontakt med ögon, hud och kläder. Om kontakt inträffar, ska det berörda området omedelbart sköljas med vatten.
- Låt inte mikroanalysbrunnarna torka när analysen har påbörjats.
- Varken skrapa eller vidrör brunnsbottenarna, när vätska avlägsnas från mikroanalysbrunnarna.
- Värmeinaktiverade, hyperlipemiska eller kontaminerade prover kan ge felaktiga resultat.
- Undvik aerosolbildning under tvätt genom att använda apparatur som aspirerar tvättvätskan i en flaska som innehåller hushållsblekmedel.
- En tvättflaska eller en automatiserad fyllningsanordning ska användas för att tvätta plattan (*ANALYSPROCEDUR*, steg 6) Det bästa resultatet erhålls om du inte använder en multikanalspipett för att tvätta mikroanalysplattan.
- Testning ska utföras i utrymmen med tillräcklig ventilation.
- Kassera behållare och oanvänt innehåll i enligt gällande nationella och lokala reglerings föreskrifter.
- Använd lämpliga skyddskläder, -handskar och -glasögon/ansiktsskydd vid hantering av kitets innehåll.
- Tvätta händerna grundligt efter hantering.
- För ytterligare information om farosymboler, säkerhet, hantering och bortskaffande av delarna som ingår i denna sats, hänvisas till säkerhetsdatabladet (SDS) på quidel.com.

FÖRVARING

Förvara den öppnade satsen vid 2 °C till 8 °C.

INDIKATIONER PÅ INSTABILITET ELLER FÖRSÄMRING HOS REAGENSER

Grumling eller missfärgning av utspädd tvättlösning anger en egenskapsförsämring av den reagensen. Om endera av dessa tillstånd inträffar, ska lösningen kasseras.

HANTERING OCH FÖRBEREDANDE AV PROVER

Hantera och kassera alla prover med vedertagna försiktighetsåtgärder.

Alla provhanteringsverksamhet ska utföras vid 2 °C till 8 °C.

Insamling Av Prover

Serum/plasma

På grund av komplementaktivering som inträffar under koagulation kommer C4a-koncentrationen i normala humana serumprover att vara högre än den koncentration som erhålls med EDTA-plasmaprover. C4a-nivåerna i EDTA-plasma kan därför mera korrekt representera *in vivo*-koncentrationer.

C4a-fragmentet är känsligt för proteolys i felaktigt tagna eller förvarade prover, och C4a kan genereras i felaktigt hanterade prover genom artefaktisk komplementaktivering och därför är korrekt provtagning, förvaring och hantering av prover väsentlig.¹⁹ För optimala plasmaresultat rekommenderar vi K2- eller K3 EDTA-provtagningsrör.

Serumprover och EDTA-plasmaprover ska tas aseptiskt med standtekniker.²⁰ Proverna ska testas omedelbart eller förvaras på is i högst fyra timmar innan de analyseras.

Om proverna inte kan testas inom fyra timmar enligt riktlinjerna ovan, ska provet frysas vid minst -70 °C.

Upptining av frysta prover

För att minimera provhanteringstiden gör du i ordning en spädningsskål (eller -rör) och tillsätter lämplig spädningssvolym (enligt beskrivning i avsnittet Provtutspädning nedan) innan proverna tinas för utvärdering.

Tina frysta prover snabbt vid 37 °C tills de precis tinat. Överför tinade prover omedelbart till is för att förhindra komplementaktivering före utspädning. Behåll proverna på is i högst fyra timmar. Lämna inte proverna vid 37 °C, eftersom komplementaktivering kan inträffa. Tina inte proverna i rumstemperatur eller på is, eftersom detta kan leda till komplementaktivering och påverka testresultatet. Prover bör testas så snart de tinat. Upp till fem tiningscykler kan utföras utan att det påverkar proverna. Om prover behöver frysas igen för ytterligare analys föreslår Quidel att multipla alikvoter av provet fryses för att förhindra att det rekommenderade antalet frys /tiningscykler överskrids.

Provtutspädning

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRD: Behandla alla prover som potentiellt smittsamma. Använd vedertagna försiktighetsåtgärder. Använd inte värmeinaktiverade, kontaminerade eller felaktigt förvarade prover.

OBS! Se Upptining av frysta prover för viktiga anmärkningar om rätta metoder för upptining av frysta prover. Korrekt provhantering är väsentlig för korrekta resultat.

Prover måste spädas så att de värden som observeras ligger över LLOQ och inte överskrider ULOQ. Prover med avläsningar utanför detta område ska omanalyseras vid ny utspädning.

Bered en lämplig utspädning (se *följande avsnitt*) för varje prov med hjälp av Provtutspädning. Blanda varje spädning försiktigt för att undvika att skum och bubblor bildas. Utspädda prover ska inte förvaras eller återanvändas.

Plasma

Rekommenderad spädning för plasmaprover i provspädningslösning är 1:40. Utför spädning enligt följande:

10 µL prov + 390 µL provspädningslösning

Serum

Rekommenderad spädning för serumprover i provspädningslösning är 1:80. Utför spädning enligt följande:

10 µL prov + 790 µL provspädningslösning

Prover med högre komplementaktiveringsnivåer kan kräva större provspädningar än vad som anges ovan.

Tillsätt utspädda prover i mikrotitreringsbrunnarna

Avsluta tillsättning av utspädda prover till mikrotitreringsbrunnarna inom 15 minuter efter applicering av det första provet.

Endera av två metoder kan användas för att tillsätta utspädda prover, standarder, kontroller och buffert till brunnarna (se Steg 4 i *ANALYSPROCEDUR*). För analyskörningar där endast ett fåtal prover testas kan de utspädda proverna och andra reagenser tillsättas direkt till de tilldelade brunnarna med en mikropipett (100 µL/brunn). För mindre eller större körningar, men i synnerhet större körningar, rekommenderar Quidel att den "replica plating"-procedur som beskrivs nedan används för att ladda standarder, kontroller och utspädda prover i mikroanalysbrunnarna så snabbt som möjligt.

Använd en multikanalspipett för att tillsätta 120-130 µL av varje lösning till individuella brunnar i en tom platta (medföljer inte) som motsvarar det slutliga EIA-mönster som önskas. När alla lösningar som ska testas har tillsatts till mikroanalysbrunnarna i den tomma plattan, överförs 100 µL snabbt från varje tom brunn till de antikroppsbelagda brunnarna med en multikanalsmikropipett. För att undvika möjligheten av korskontaminering måste pipettspetsarna bytas varje gång det är en förändring i de provblandningar som överförs.

Denna "replica plating"-procedur kan även användas för att utan olägenhet tillsätta konjugat, substrat och stopplösning.

FÖRBEREDANDE AV REAGENS

Låt alla reagenser och allt material nå en temperatur på 15 °C till 27 °C före användning.

Sedan de reagenser och det material som behövs har tagits ut, ska du låta oanvända artiklar återgå till sina lämpliga förvaringstemperaturer (se *FÖRVARING*).

Mikroanalysremсор

Fastställ det antal remсор som behövs för analysen. Quidel rekommenderar test av tomma brunnar, standarder och kontroller i duplikat. Avlägsna de remсор du inte behöver, förvara dem i förvaringspåsen, tillslut påsen och placera den igen i 2 °C till 8 °C. Säkra de remсор som ska användas i analysen, i analysplattans ram.

Tvättlösning

Blanda 20X tvättlösningskoncentratet genom att vända flaskan upp och ner flera gånger. Om 20X tvättlösningskoncentratet har förvarats vid 2 °C till 8 °C, kan kristaller ha bildats. För att lösa upp kristallerna värms flaskan upp i ett vattenbad på 37 °C till 50 °C tills alla kristaller lösts upp, följt av en grundlig blandning. Bered tvättlösningen genom att späda allt innehåll i en av flaskorna med 20X tvättlösningskoncentrat med upp till en liter destillerat eller avjoniserat vatten. Blanda grundligt. Tvättlösningen är stabil i 30 dagar när den förvaras i en ren behållare vid 2 °C till 8 °C. Om missfärgning eller grumling inträffar ska reagensen kasseras.

Standarder och kontroller

Standarder och kontroller medföljer färdiga för användning och kräver inte utspädning eller beredning före användning.

ANALYSPROCEDUR

Läs hela produktbipacksedeln innan du påbörjar analysen.

Se *VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER* och *REAGENSBEREDNING*.

1. Registrera mikroanalysbrunnarnas lägen som motsvarar brunnen/brunnarna för bakgrundsbestämning, alla testprover, standarder och kontroller, så väl som de angivna satsnumren från ampul etiketterna. Sätt en etikett i ett hörn på mikroanalysplattan för riktning.
2. Bered mikroanalysremsorna enligt följande:
 - a. Rehydrera mikroanalysbrunnarna genom att tillsätta ungefär 300 µL tvättlösning till varje brunn med en tvättflaska eller automatiserad påfyllningsanordning.
 - b. Inkubera vid 15 °C till 27 °C i 2 minuter.
 - c. Avlägsna vätskan från varje brunn.
 - d. Tillsätt ungefär 300 µL tvättlösning i varje brunn.
 - e. Avlägsna vätskan från varje brunn.
 - f. Upprepa steg d-e en gång till så att totala antalet tvättar är tre.**
 - g. Vänd plattan upp och ner och knacka den ordentligt med lätta slag mot absorberande papper för att avlägsna all kvarvarande vätska.
3. Välj en eller flera brunnar för bakgrundsbestämning. Tillsätt 100 µL provutspädning till den brunn/de brunnar som ska användas som bakgrundsbestämning i plattavläsaren.
4. Tillsätt 100 µL standarder, kontroller eller utspädda prover till de tilldelade duplikatbrunnarna. Hela plattan måste laddas inom 15 minuter efter att det första provet laddats på plattan.
5. Inkubera vid 15 °C till 27 °C i 60 ± 5 minuter.
6. Tvätta mikroanalysbrunnarna totalt 5 gånger enligt följande procedur:
 - a. Aspirera innehållet från varje brunn.
 - b. Använd en tvättflaska eller automatiserad plattvättningsanordning och tillsätt ungefär 300 µL tvättlösning i varje brunn.
 - c. Inkubera brunnarna i 1 minut vid 15 °C till 27 °C.
 - d. Aspirera innehållet från varje brunn.
 - e. Vänd plattan upp och ner och knacka den med lätta slag mot absorberande papper för att avlägsna all kvarvarande vätska.
 - f. Tillsätt ungefär 300 µL tvättlösning i varje brunn.
 - g. Aspirera innehållet från varje brunn.
 - h. Vänd plattan upp och ner och knacka den med lätta slag mot absorberande papper för att avlägsna vätska mellan varje tvätt.
 - i. Repetera steg f-h fyra gånger till så att totala antalet av tvättar är fem.**
 - j. Efter den femte tvättcykeln vänder du plattan upp och ner och knackar den ordentligt med lätta slag mot absorberande papper för att avlägsna all kvarvarande vätska.
7. Med en multikanalpipett eller en repeterpipett dispenserar du 100 µL C4a-konjugat i varje tvättad testbrunn, inklusive brunnen/brunnarna för bakgrundsbestämning.
8. Inkubera mikroanalysremsan vid 15 °C till 27 °C i 60 ± 5 minuter.
9. Tvätta mikroanalysbrunnarna efter inkubationen på 60 minuter (steg 8), enligt beskrivning i *ANALYSPROCEDUR*, steg 6.
10. Omedelbart efter tvättproceduren dispenserar du 100 µL TMB-substratlösning i varje brunn, inklusive brunnarna för bakgrundsbestämning.
11. Inkubera mikroanalysremsan vid 15 °C till 27 °C i 15 ± 1 minuter.
12. Tillsätt 100 µL stopplösning i varje brunn för att stoppa den enzymatiska reaktionen. Stopplösningen ska tillsättas i brunnarna i samma ordning och med samma hastighet som substratlösningen tillsattes.

13. Knacka plattan försiktigt mot bordsytan för att fördela färgutvecklingen helt och jämnt. **OBS! Optimala resultat kan erhållas genom användning av plattavläsarens auto-mix-funktion (om tillgänglig) alldeles före avläsning av plattan.**
14. Bestäm absorptionsavläsningen vid 450 nm för varje testbrunn inom 30 minuter efter tillsättandet av stopplösningen (steg 12), genom att göra en bakgrundskorrigerig i enlighet med det spektrofotometriska system som används.
15. Fastställ provernas och kontrollernas koncentration med standardkurvan.
16. Kassera återstående utspädda prover, substrat och de begagnade mikroanalysremorna (se *VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER*)

KVALITETSKONTROLL

Det analysintyg som inkluderas i denna sats är satsspecifikt och ska användas för att verifiera att resultaten som uppnås av ert laboratorium motsvarar de som uppnåddes vid Quidel Corporation. De optiska densitetsvärden som tillhandahålls är endast avsedda som en riktlinje. De resultat som ert laboratorium uppnår kan vara annorlunda.

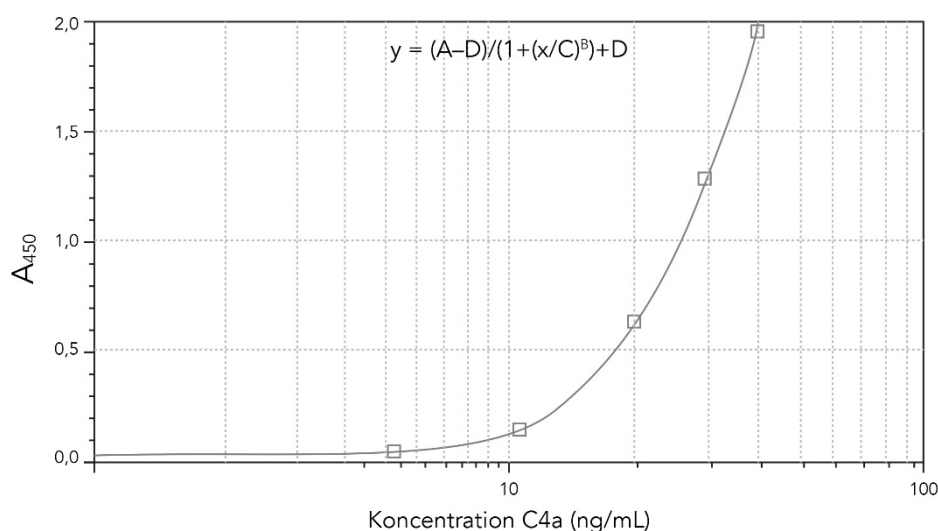
Kvalitetskontrollintervaller medföljer. Kontrollvärdena är avsedda att verifiera kurvans och provresultatens validitet. Varje laboratorium bör etablera sina egna parametrar för acceptabla analysgränser. Om kontrollvärdena INTE ligger inom ert laboratoriums acceptabla gränser, så ska analysresultaten anses vara tvivelaktiga, och proverna ska upprepas.

TOLKNING AV RESULTAT

Användning av standardkurvan: Standardkurvan för C4a EIA genereras med hjälp av de subtraherade A_{450} -bakgrundsvärdena för varje standard (på y-axeln) och den tilldelade koncentrationen för varje C4a-standard (på x-axeln). Efter 4-parametersregression måste den genererade standardkurvan uppfylla valideringskraven (se nedan). De flesta plattavläsningsprogram och datorer klarar av att utföra dessa beräkningar.

Alternativt kan data framställas grafiskt manuellt och testprovets värden (ng/mL) läsas direkt från standardkurvans bästa diagramkurva. Ett exempel på en typisk standardkurva visas i figur 1.

Figur 1
Representativ standardkurva



Prov	A ₄₅₀	ng/ml
Standard A	0,05	5,19
Standard B	0,179	10,51
Standard C	0,657	20,29
Standard D	1,301	29,57
Standard E	1,956	40,34

Beräkning av faktisk C4a-koncentration i testprover

Den faktiska C4a-koncentration som finns i varje utspätt testprov fastställs genom multiplicering av C4a ng/mL-koncentrationen, som fastställts från standardkurva, med det reciproka värdet på den provutspädningsfaktor som används.

Om A₄₅₀-värdena för ett givet testprov är högre än värdena på den högsta standarden (E), ska resultaten rapporteras som "större än" C4a-koncentrationen i den högsta standarden (E) multiplicerad med provets utspädningsfaktor. Om ett mera korrekt C4a-koncentrationsvärde krävs, ska testprovet omanalyseras med en högre utspädningsfaktor. I alla upprepade analyser måste också C4a-standarder och kontroller köras.

VALIDERING

korrelationskoefficient(r): $\geq 0,98$
bakgrundsvärde: $\leq 0,150$

Se ampul etiketterna eller produkt C av A för de medelvärdesaccepterbara C4a-koncentrationsvärdena för höga och låga kontroller.

BEGRÄNSNINGAR

MicroVue C4a enzymimmunanalys har använts för att testa prover tagna som serum, eller som plasma i K2 eller K3 EDTA. Vi rekommenderar inte att citratplasma eller heparinplasma används i MicroVue C4a-analysen, eftersom de kommer att producera felaktiga resultat. Andra antikoagulanter har inte testats.

OBSERVERADE VÄRDEN

EDTA-plasma och serum från respektive 32 och 44 normala donatorer, testades i MicroVue C4a enzymimmunanalyssatsen. Resultaten presenteras nedan.

Prov	n	Medelvärde (ng/mL)	Intervall (ng/mL)
EDTA-plasma	32	1694,65	383,50 till 8168,17
Serum	44	1098	20,92 till 4437,24

OBS! Medelvärdets och standardavvikelsens (SD) beteende i C4a-fragmentkoncentrationer fastställda för plasma- eller serumprover kan variera mellan laboratorier. Vi rekommenderar därför att varje laboratorium fastställer medelvärdet för C4a-fragmentkoncentrationen och standardavvikelsevärdena för proven.

UTFÖRANDE AV TESTET

Gränser

LOD: T Detektionsgränsen (LOD) för C4a EIA är 0.29 ng/mL, fastställt genom den övre 3SD-gränsen i en nollstandardstudie.

LLOQ: T Den lägre kvantifieringsgränsen (LLOQ) för C4a EIA är 5,0 ng/mL, den lägsta koncentrationen på standardkurvan som uppfyller CLSI-kriterierna för noggrannhet och precision.

ULOQ: TDen övre kvantifieringsgränsen (ULOQ) för C4a EIA är 61 ng/mL, den högsta koncentrationen som uppfyller CLSI-kriterierna för noggrannhet och precision.

Interfererande substanser

Följande substanser testades i C4a EIA och befanns inte interferera med den analys som använde plasma- eller serumprover:

Substans	Koncentration
Bilirubin	40 mg/dl
Hemoglobin	200 mg/dl
Triglycerider	3000 mg/dl
Glukos	1000 mg/dl
Kolesterol	500 mg/dl
Albumin	6000 mg/dl
Gammaglobulin	6000 mg/dl
EDTA	10 mM
Heparin	3 U/ml

Precision

Precision inom och under analysen fastställdes genom att analysera 20 replikat av 1 plasmaprov och i serumprov i 10 olika analyser.

Prøv	C4a (ng/ml)	Inom analys ¹ CV. (%)	Under analys ² CV. (%)
EDTA-plasma	833,9	3,7 %	4,4 %
Serum	1941,5	4,3 %	4,0 %

¹n = 20 replikater ²n = 10 körsler

Linjäritet

Linjäritet utfördes genom utspädning av prover med provutspädningsvätska och genom att jämföra observerade värden med förväntade värden. Typiska resultat lämnas nedan.

Prøv	Spädningsfaktor	Observerad C4a (ng/ml) ³	Förväntad C4a (ng/ml) ³	Återhämtning (%)
EDTA-plasma	60	35,27	35,27	100 %
	80	27,247	26,45	103 %
	100	21,678	21,16	102 %
	120	18,156	17,64	103 %
Serum	80	23,657	23,657	100 %
	95	20,331	19,92	102 %
	110	17,743	17,21	103 %
	125	15,885	15,14	105 %

³Putspädningsfaktor ej inkluderad

Transientåterhämtning

Transientåterhämtning utfördes genom att "spika" prover med en känd kvantitet renad C4a och jämföra observerade värden med förväntade värden.

Pröv	C4a (ng/mL)	Spik (ng/mL)	Resultat (ng/mL)	Återhämtning (%)
Plasma 1	899,598		1211,02	92 %
Plasma 2	996,199	416,91	1288,55	91 %
Plasma 3	902,898		1257,25	95 %
Serum 1	1000,298		1526,67	84 %
Serum 2	1522,56	807,258	2090,01	90 %
Serum 3	675,658		1570,40	106 %

SUPPORT

För support utanför USA ska du kontakta den lokala distributören. Ytterligare information om Quidel, våra produkter och våra distributörer återfinns på vår webbplats på quidel.com.

REFERENSER

1. Moon K.E., Gorski J.P., Hugli T.E. 1981. "Complete primary structure of human C4a anaphylatoxin." *J BIOL CHEM* 256(16):8685-8692.
2. Gorski J.P., Hugli T.E., Muller-Eberhard H.J. 1979. "C4a: The third anaphylatoxin of the human complement system." *PROC NATL ACAD SCI (USA)* 76(10):5299-5302.
3. Gorski J.P., Hugli T.E., Muller-Eberhard H.J. 1981. "Characterization of human C4a anaphylatoxin." *J BIOL CHEM.* 256(6):2707-2711.
4. Hugli, T.E. 1986. Biochemistry and biology of anaphylatoxins. *COMPLEMENT* 3:111-27.
5. Fukuoka Y, Xia H-Z, Sanchez-Nunoz L.B., Dellinger A.L., Escribano L., Schwartz L.B. 2008. "Generation of anaphylatoxins by human β -Tryptase from C3, C4, and C5." *J IMMUNOL.* 180:6307-6316.
6. Mateja M.M., Korosec P., Kern I., Flezar M., Suskovic S., Sorli J. 2004. "Complement factors C3a, C4a, and C5a in chronic obstructive pulmonary disease and asthma." *AM J RESPIR CELL MOL BIOL.* 31:216-219.
7. Lee S-H, Rhim T., Choi Y-S, Kim S-H, Cho S-Y, Paik Y-K, Park C-S. 2006. "Complement C3a and C4a increased in plasma of patients with aspirin-induced asthma." *AM J RESPIR CRIT CARE MED.* 173:370-378.
8. Hass P-J, van Strijp J., 2007. "Anaphylatoxins: Their role in bacterial infection and inflammation." *IMMUNOL RES.* 37(3):161-175.
9. Abou-Ragheb H.H.A., Williams A.J., Brown C.B., Milford-Ward A. 1992. "Plasma levels of the anaphylatoxins C3a and C4a in patients with IgA nephropathy/Henoch-Shonlein nephritis." *NEPHRON* 62:22-26.
10. Tsuruta T., Yamamoto T., Matsubara S., Nagasawa S., Tanase S., Tanaka J., Takagi K., Kambara T. 1993. "Novel function of C4a anaphylatoxin: Release from monocytes of protein which inhibits monocyte chemotaxis." *AM J PATHOL* 142(6):1848-1857.
11. Wild G., Watkins J., Milford-Ward A., Hughes P., Hume A., Rowell N.R. 1990. "C4a anaphylatoxin levels as an indicator of disease activity in systemic lupus erythematosus." *CLIN EXP IMMUNOL* 80:167-170.
12. Ingram G., Hakobyan S., Robertson N.P., Morgan B.P. 2010. "Elevated plasma C4a levels in multiple sclerosis correlate with disease activity." *J NEUROIMMUNOL.* 223:124-127.
13. Olu K., Atsumi T., Bohgaki M., Amengual O., Kataoka H., Horita T., Yasuda S., Koike T. 2009. "Complement activation in patients with primary antiphospholipid syndrome." *ANN RHEUM DIS.* 68:1030-1035.
14. Nyakoe N.K., Taylor R.P., Makumi J.N., Waitumbi J.N. 2009. "Complement consumption in children with Plasmodium falciparum malaria." *MALARIA J.*, 8:7-15.

15. Marcheix B., Carrier M., Martel C., Cossette M., Pellerin M., Bouchard D., Perrault L.P. 2008. "Effect of pericardial blood processing on postoperative inflammation and the complement pathways." *ANN THORAC SURG.* 85:530-535.
16. Shoemaker R.C., Giclas P.C., Crowder C., House D., Glovsky M.M. 2008. "Complement split products C3a and C4a are early markers of acute lyme disease in tick bite patients in the United States." *INT ARCH ALLERGY IMMUNOL* 146:255-261.
17. Stricker R.B., Savely V.R., Motanya N.C., Giclas P.C. 2008. "Complement split products C3a and C4a in chronic lyme disease." *SCAND J IMMUNOL.* 69:64-69.
18. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. 2007. *BIOSAFETY IN MICROBIOLOGICAL AND BIOMEDICAL LABORATORIES (BMBL) 5TH EDITION.* Washington: U.S. Government Printing Office.
<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmb15/bmb15toc.htm>.
19. Mollnes, T.E., P. Garred, and G. Bergseth. 1988. 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 IMMUNOLOGY.* 73:484-88.
20. Centers for Disease Control. 1987. "Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings." *MMWR.* 36 (suppl. No. 2S):001.

REF

A036 – MicroVue C4a Fragment 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

PIA036001SV00 (04/19)

ORDLISTA

REF

Katalognummer



CE-märkning om överensstämmelse

EC REP

Auktoriserad representant inom europeiska gemenskapen

LOT

Satskod



Använd före



Tillverkare



Temperaturbegränsning



Avsedd användning



Konsultera e-märkning bruksanvisning



Biologisk risk

IVD

För *in vitro*-diagnostik



Innehållet räcker till 96 bestämningar

CONT

Innehåll/innehåller

CONTROL

Kontroll
