



КОМПЛЕМЕНТ C4

(IT-C4 DIL 1x15)

Набор жидких реагентов готовых к употреблению

Кат. No. 10007747

Хранить при (+2 – +8) °C

Набор реагентов для определения компонента C4 в сыворотке и плазме иммунотурбидиметрическим методом

Принцип метода

Определение компонента C4 иммунотурбидиметрическим методом основано на взаимодействии этого белка со специфическими антителами с образованием иммунокомплексов, преципитация которых приводит к увеличению мутности раствора при 340 нм пропорционально концентрации компонента C4 в образце.

Состав реагентов

| | |
|--|-------------------|
| R1 Буфер | (1x125 мл) |
| Имидазоловый буфер pH 7 | 35 ммоль/л |
| Полиэтиленгликоль | 40 г/л |
| Хлорид натрия | 151 ммоль/л |
| Азид натрия | 0,9 г/л |
| R2 Антисыворотка | (1x15 мл) |
| Стерильная очищенная от липидов козья сыворотка против человеческого компонента C4 | титр +/- 3 г/л |
| HEPES буфер pH 7,4 | 50 ммоль/л |
| ЭДТА | 9 ммоль/л |
| Азид натрия | 0,9 г/л |
| Состав реакционной смеси | |
| Имидазоловый буфер pH 7 | 29 ммоль/л |
| HEPES буфер pH 7,4 | 8 ммоль/л |
| Полиэтиленгликоль | 33 г/л |
| Натрия хлорид | 126 ммоль/л |
| ЭДТА | 1,5 ммоль/л |
| Азид натрия | 0,9 г/л |

Приготовление и стабильность рабочих реагентов

Реагенты стабильны до достижения указанного срока годности, если хранятся при (+2 – +8) °C.

Реагенты R1 и R2 жидкие готовые к использованию.

После вскрытия, реагент R1 стабилен до указанного срока годности, если хранится при (+15 – +25) °C и реагент R2 стабилен до указанного срока годности, если хранится при (+2 – +8) °C, при условии соблюдения температурного режима, в тщательно закрытых флаконах, избегая испарения или контаминации реагентов.

Образцы

Сыворотка или плазма (гепарин, фтористый натрий, ЭДТА, цитрат натрия). Образцы должны быть свежими и без гемолиза.

Перед анализом сыворотку можно хранить неделю при (+2 – +8) °C или три месяца при –20 °C.

Недопустимо повторное замораживание и размораживание образца.

Калибровка

Для калибровки используется Мультистандарт высокий (Кат. № 10003233) или Мультистандарт set 3 (Кат. № 10003238).

Для фотометрического определения концентрации компонента C4 в исследуемом образце строится калибровочная кривая по 5 стандартам различной концентрации, получаемым из мультистандарта высокого постепенным разведением его физиологическим раствором в соотношении 1:1.

Например, если концентрация компонента C4 в мультистандарте равна 1,0 г/л, готовятся стандарты с концентрацией: 0,07-0,13-0,25-0,5-1,0 г/л (используемое разведение 1:16, 1:8, 1: 4, 1:2 и не разведенный стандарт).

Постройте калибровочную кривую.

Образец с концентрацией компонента C4, превышающей максимальное значение стандарта, необходимо развести физиологическим раствором в 10 раз и повторить анализ. Результат умножить на фактор разведения.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуется контрольная сыворотка Bio-Rad LiquiCheck™ Immunology Control или любые контрольные сыворотки со значениями компонента C4, определенными иммунотурбидиметрическим методом.

Проведение анализа

| | |
|---------------------------|--------|
| Длина волны | 340 нм |
| Оптический путь | 1 см |
| Температура | 37 °C |
| Образец/реакционная смесь | 1/44 |

Объемы образца и реагентов могут быть изменены при сохранении соотношения реагент/образец

| | Образец | Стандарт | Реагент бланк |
|---|----------|----------|---------------|
| Стандарт | – | 0,007 мл | – |
| Образец | 0,007 мл | – | – |
| Дистил.вода | – | – | 0,007мл |
| Реагент 1 | 0,250 мл | 0,250 мл | 0,250 мл |
| Перемешать, инкубировать 5 мин при 370 C. | | | |
| Измерить поглощение A1 | | | |
| Реагент 2 | 0,050 мл | 0,050 мл | 0,050 мл |
| Перемешать, инкубировать 5 мин при 37 °C. | | | |
| Измерить поглощение A2 | | | |

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

Расчеты

Расчитать разницу A2–A1 для бланка, стандарта и образца.

$$C4(r/л) = C_{(станд.)} \times \frac{(A_2 - A_1)_{образец} - (A_2 - A_1)_{бланк}}{(A_2 - A_1)_{стандарт} - (A_2 - A_1)_{бланк}}$$

C_(станд.) - концентрация стандарта

Нормальные величины

C4 компонент (г/л)

Дети (6 месяцев – 13 лет)

0,1–0,4

Взрослые

0,1–0,34

Приведенные величины следует рассматривать как ориентировочные.

Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

Рабочие характеристики

Чувствительность/Пределы определения

Нижний предел определения 0,0004 г/л

Hook effect: Не наблюдается при концентрации компонента C4 до 4 г/л.

Специфичность: антисыворотка при иммуноэлектрофорезе и пассивной иммунодиффузии проявляется одной полосой.

Воспроизводимость (при 37 °C)

| Внутрисерийная n = 10 | Среднеарифметическое значение (г/л) | SD (г/л) | CV (%) |
|-----------------------|-------------------------------------|----------|--------|
| Образец 1 | 0,13 | 0,01 | 3,7 |
| Образец 2 | 0,27 | 0,01 | 1,7 |
| Межсерийная n = 10 | Среднеарифметическое значение (г/л) | SD (г/л) | CV (%) |
| Образец 1 | 0,14 | 0,01 | 4,2 |
| Образец 2 | 0,26 | 0,01 | 1,9 |

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 18 образцах с использованием реагентов Erba Lachema компонент C4 (y) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (метод нефелометрии) (x).

Результаты: y = 1,27 x + 0,014 г/л г = 0,986

Специфичность/Влияющие вещества:

Триглицериды < 11,3 ммоль/л, гемоглобин < 200 мкмоль/л, билирубин < 500 мкмоль/л не влияют на результаты анализа (< 10% или 2 SD).

Стабильность калибровки зависит от анализатора. При работе на автоматических анализаторах > 4 недель

Меры предосторожности

Набор реагентов предназначен для in vitro диагностики профессионально обученным лаборантом.

Реагенты входящие в набор не содержат опасные вещества.

Биологический материал, используемый в производстве набора, проверен на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита В (HbsAg), антител к вирусу иммунодефицита человека (HIV) и антител к вирусу гепатита С (HCV). Так как риск заражения нельзя полностью исключить, поэтому работать с набором необходимо, как с потенциально инфицированным материалом.

В состав набора входит азид натрия. При работе необходимо соблюдать осторожность. Исключить прием внутрь, попадание на кожу и слизистые.

Первая помощь

При приеме внутрь следует прополоскать рот водой, выпить 0,5 л воды и вызвать рвоту. При попадании в глаза быстро промыть их проточной водой. При попадании на кожу необходимо промыть теплой водой с мылом. Во всех серьезных случаях обратиться к врачу.

Утилизация использованных материалов

Все образцы теста должны рассматриваться как потенциально инфицированные и вместе с остальными реагентами должны быть уничтожены в соответствии с существующими в каждой стране правилами для данного вида материалов.

Бумажная упаковка и другое (бумага, стекло, пластик) должны быть расфасованы для выброса с мусором или отправления на переработку.

Литература

1. Bergström, K. & Lefvert, A. K.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 40 (1980) 637
2. Tietz, N. W. Fundamentals of Clinical Chemistry. Saunders, Philadelphia 1994.
3. Roitt, I.: Essential Immunology, Blackwell, Oxford (1991)
4. Zima, T.: Laboratorní diagnostika, Galén (2002)

Дата проведения последнего контроля: 4.3.2011