




TECHNOCHROM[®] C1-INH



REF 5345003 TECHNOCHROM[®] C1-INH



symbols key / Symbolschlüssel / interpretazione dei simboli / explicación de símbolos / explicação dos símbolos / explication des symboles

	manufactured by / Hergestellt von / prodotto da / fabricado por / fabricado por / fabriqué par	AQUA	distilled water / destilliertes Wasser / acqua distillata / agua destilada / Água destilada / eau distillée
	expiry date / Verfallsdatum / data di scadenza / fecha de caducidad / Data de validade / date d'expiration	DIL	dilute or dissolve in / verdünnen oder lösen in / a diluire o a sciogliere in / diluir o dissolver / diluir ou dissolver em / à diluer ou à dissoudre
	storage temperature / Lagertemperatur / temperatura di conservazione / temperatura de conservación / Temperatura de conservação / température de conservation	IVD	in vitro diagnostic use / in vitro Diagnostikum / diagnostico in vitro / diagnóstico en vitro / Diagnóstico in vitro / diagnostique in vitro
	consult instructions for use / Gebrauchsanweisung beachten / consultare le istruzioni per l'uso / consulte las instrucciones de uso / Consultar o manual de instruções / consulter la notice d'utilisation	LOT	lot / Charge / lotto / lote / Lote / lot
	CE-mark / CE-Zeichen / marchio di CE / marca de CE / Marca CE / marquage CE	REF	catalogue number / Katalognummer / numero di catalogo / número de catálogo / Número de referência / référence
	determinations / Bestimmungen / determinazioni / determinaciones / Determinações / déterminations	SUB	substrate / Substrat / substrato / substrato / substrat / Substrat

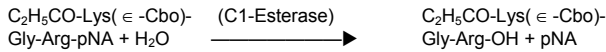
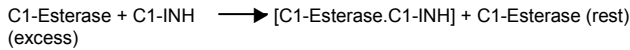


PRODUCT DESCRIPTION

INTENDED USE

Diagnosis of hereditary angioneurotic edema (HANE).
The C1-esterase inhibitor (C1-INH) is a regulatory protein that functions as an inhibitor of several serine proteases in the complement system, the kallikrein-kinin system, the coagulation cascade and in fibrinolysis.

TEST PRINCIPLE



COMPOSITION

Reagent kit for 30 photometric C1-Esterase Inhibitor determinations.

mL	reagent	other data
1 x 3	Substrate C1-1	18 µmol, AcOH. C ₂ H ₅ CO-Lys (ε -Cbo)-Gly-Arg-pNA, p.m. = 729.8
1 x 3	C1-Esterase	human
1 vial	Coagulation Reference for C1-INH	ca. 120% = 1.2 U C1-INH/mL (See label for reconstitution volume)
1 x 1	Coagulation Control A for C1-INH	lyophilized abnormal plasma
1 x 1	Coagulation Control N for C1-INH	lyophilized normal plasma
1 x 25	Sample Buffer A	Tris (6.1 g/L)-NaCl (15 g/l)-Buffer pH 7.4
1 x 20	Reaction Buffer B	Tris (6.1 g/L)-NaCl (15 g/l)-Buffer pH 8.5

MATERIAL REQUIRED (not supplied with the kit)

- Pipettes
- Distilled water
- For the endpoint method: 50 % acetic acid.

WARNING AND PRECAUTIONS

- IVD for *in vitro* diagnostic use
- All blood and plasma samples and products have to be regarded as potentially infectious and handled with appropriate care and in compliance with the biosafety regulations in force and must be disposed of in the same way as hospital waste.
- Each single donor plasma and each lot of Coagulation Control are tested and found negative for Hb_sAg, HIV 1/2 Ab and HCV Ab. However, universal precautions (treating all human source materials as if potentially infectious) should be exercised.

STABILITY AND STORAGE

The expiry date printed on the labels applies to storage of the unopened bottles at +2...8 °C.

Stability after reconstitution:

The reconstituted reagents are stable for 6 hours at reaction temperature. Reconstituted reagents may be stored at -20°C.

The vials can be only frozen once. Upon storage, caps should be screwed tightly. Frozen reagents should be used within one month.

TEST PROCEDURE

PREPARATION OF PLASMA SAMPLES

Plasma separation:

Mix 9 parts of venous blood and 1 part sodium citrate solution (0.11 mol/L) and centrifuge for 15 minutes at a RCF of at least 2500 (corresponding to DIN 58905). The plasma sample may not be stored at room temperature for more than three hours; otherwise the sample has to be frozen immediately after centrifugation.

Sample preparation:

Before testing the plasma samples are diluted with Sample Buffer A at a ratio of 1:11 (0.05 mL sample + 0.50 mL Buffer A). Samples with C1-INH activity > 115% should be diluted 1:22.

PREPARATION OF REAGENT

All reagents including distilled water should have reached room temperature before use. The lyophilized reagents are dissolved in the volume of distilled water indicated and are ready for use after 10 minutes. For standardization test a reconstitution time of 30 min is recommended.

PERFORMANCE OF THE TEST

C1-Esterase and the diluted sample are kept at room temperature, the Substrate-Buffer mixture at +37°C. Measurements are done at 37°C.

Mixing the Substrate C1-1 with reaction Buffer B:

Kinetic determination		End-point determination
1 part 5 parts	Substrate C1-1 Reaction Buffer B	1 part 4 parts

Pipetting scheme: Pipette into plastic tubes or cuvettes.

Kinetic Determination		End-point determination
100 µL 100 µL	diluted sample C1-Esterase	100 µL 100 µL
5 minutes	incubation 37°C	5 minutes
600 µL	Substrate- buffer mixture	500 µL
The extinction increase is measured at 405 nm at 37°C. During 4 min the reaction is linear.	incubation 37°C	3 minutes
	acetic acid 50%	200 µL
		The extinction is measured at 405 nm against blank.

LIMITATION OF THE TEST

In inflammatory processes the activity of the acute-stage-protein C1-INH may be far above the normal value. It is recommended to test samples with values above 115% C1-INH once more in a dilution of 1:22.

ANALYSES RESULTS

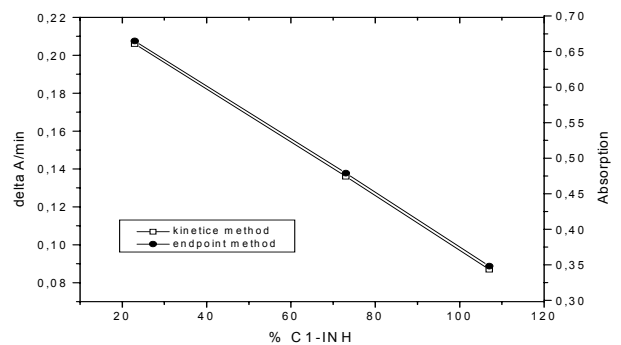
CALCULATION OF THE RESULTS

To establish a reference curve 3 serial dilutions of Coagulation Reference are prepared and tested together with an optional blank (sample buffer A) reading.

Predilute the Coagulation Reference 1:11 with sample buffer A (0.05 mL plasma + 0.50 mL buffer A). From this predilution prepare a series of dilutions (1:1, 1:2, 1:4) also with sample buffer A (the 1:1 dilution corresponds to the 1:11 predilution). This series should be tested in the same way as a patients sample in the assay. The absorption increase (ΔA/min) in the kinetic method or the absorption (A) in the end-point method are plotted on linear graph paper as readings for 120, 60 and 30% C1-INH value and are plotted to give a linear calibration curve. The blank reading may be used in the reference curve as the 0 % C1-INH value.

The control plasmas Coagulation Control A and N are prediluted 1:11 (0.05 mL plasma + 0.50 mL Buffer A) with sample buffer A and may be read off directly from the reference curve. The values should fall within the confidence limits printed on the label of the control plasma.

Example: manual method (kinetic and endpoint):



All samples diluted 1:11 can be directly read off from the calibration curve. For samples diluted other than 1:11 the % activity read off from the calibration curve has to be converted as follows:

$$\frac{\% \text{ C1-INH (calibration curve)}}{11} \times \text{actual dilution ratio} = \% \text{ C1-INH of sample}$$

Thus in samples diluted 1:22 the C1-INH activity is twice the value read off from the calibration curve.

REFERENCE RANGE

0.70-1.30 U C1-INH/mL (70 – 130 % of normal)

STANDARDIZATION

1 Unit C1-INH corresponds to the average C1-esterase inhibitor activity present in 1 mL of fresh citrated normal plasma.

LITERATURE

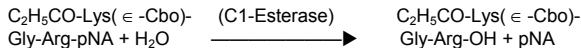
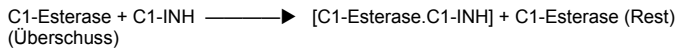
Please contact Technoclone or your local distributor for literature or technical applications for the test.

PRODUKTBESCHREIBUNG

ANWENDUNG

Diagnose des hereditären angioneurotischen Ödems (HANE). Der C1-Esterase Inhibitor (C1-INH) ist ein Protein welches als Inhibitor verschiedener Serinproteasen im Komplement-System, im Kallikrein-Kinin-System, in der Gerinnungskaskade und in der Fibrinolyse wirkt.

TESTPRINZIP



ZUSAMMENSETZUNG

Reagenziensatz für 30 photometrische C1-Esterase Inhibitor-Bestimmungen:

mL	Reagenz	sonstige Angaben
1 x 3	Substrat C1-1	18 µmol, AcOH. C ₂ H ₅ CO-Lys(ε-Cbo)-Gly-Arg-pNA, p.m. = 729,8
1 x 3	C1-Esterase	human
1 Fl.	Coagulation Reference für C1-INH	ca. 120% bzw. 1,2 E C1-INH/mL (Siehe Etikette f. Auffüßevolumen)
1 x 1	Coagulation Control A für C1-INH	lyophilisiertes abnormales Plasma
1 x 1	Coagulation Control N für C1-INH	lyophilisiertes Normalplasma
1 x 25	Probenpuffer A	Tris (6,1 g/L)-NaCl (15 g/L)-Puffer pH 7,4
1 x 20	Reaktionspuffer B	Tris (6,1 g/L)-NaCl (15 g/L)-Puffer pH 8,5

BENÖTIGTES MATERIAL (nicht im Testkit enthalten)

- Pipetten
- Destilliertes Wasser
- Für die Endpunktmethode zusätzlich erforderlich: 50%-Essigsäure

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Nur zur Anwendung als *in vitro* Diagnostikum
- Alle Blut- bzw. Plasmaprodukte und Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden. Sie sind mit der notwendigen Sorgfalt und entsprechend den Sicherheitsvorschriften zu behandeln und wie Krankenhausmüll zu entsorgen.
- Diese Reagenziencharge und jedes hierzu verwendete Einzelplasma ist Hb_sAg, HIV 1/2 Ak and HCV Ak negativ. Alle humanen Blut- bzw. Plasmaprodukte und Proben müssen als potenziell infektiös angesehen werden. Sie sind mit der notwendigen Sorgfalt und entsprechend den Sicherheitsvorschriften zu behandeln.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Reagenzien sind ungeöffnet bei +2...+8°C zu lagern und bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum verwendbar.

Stabilität nach Rekonstitution:

Die rekonstituierten Reagenzien sind 6 Stunden unter den bei der Testdurchführung angegebenen Temperaturen haltbar. Das Einfrieren bei -20°C der rekonstituierten Reagenzien ist möglich.

Das Plasma darf nur einmal eingefroren werden. Während der Lagerung sollte die Schutzkappe fest verschlossen sein. Die eingefrorenen Reagenzien sollten innerhalb eines Monats aufgebraucht werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

VORBEREITUNG DER PLASMAPROBE

Plasmagewinnung:

9 Teile Venenblut mit 1 Teil Natriumcitratlösung (0,11 mol/L) mischen und 15 min. bei einer RZB von mind. 2500 zentrifugieren (entspr. DIN 58905). Die Plasmaprobe kann 3 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt werden, andernfalls muss die Probe sofort nach Zentrifugation eingefroren werden. Haltbarkeit bei -20°C: 1 Monat.

Probenvorbereitung:

Plasmaproben werden vor der Testdurchführung mit dem Probenpuffer A 1:11 (0,05 mL Probe + 0,50 mL Puffer A) verdünnt. Proben mit einer C1-INH-Aktivität > 115% sollten 1:22 verdünnt getestet werden.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Alle Reagenzien einschließlich Aqua dest. sollen vor Gebrauch Raumtemperatur erreicht haben. Die lyophilisierten Reagenzien werden mit Aqua dest. im angegebenen Volumen gelöst und können nach 10 min verwendet werden. Für Standardisierungsuntersuchungen empfiehlt sich eine Rekonstitutionszeit von 30 Minuten.

TESTVERFAHREN

C1-Esterase und verdünnte Probe werden bei Raumtemperatur, das Substrat-Puffer-Gemisch bei 37°C aufbewahrt. Die Messung erfolgt bei 37°C.

Mischen des Substrates C1-1 mit Reaktionspuffer B:

Kinetische Bestimmung		Endpunkt Bestimmung
1 Teil 5 Teile	Substrate C1-1 Reaktionspuffer B	1 Teil 4 Teile

Pipettierschema: In Kunststoffröhrchen bzw. Kunststoffküvetten pipettieren.

Kinetische Bestimmung		Endpunkt Bestimmung
100 µL 100 µL	verdünnte Probe C1-Esterase	100 µL 100 µL
5 min.	Inkubation 37°C	5 min.
600 µL	Substrat-Puffergemisch	500 µL
Die Extinktionszunahme pro Minute wird bei 405 nm und 37°C gemessen. Die Reaktion verläuft 4 Minuten linear.	Inkubation 37 °C	3 min.
	Essigsäure 50%	200 µL
		Die Extinktion wird bei 405 nm gegen blank gemessen.

EINSCHRÄNKUNG DER TESTDURCHFÜHRUNG

Bei entzündlichen Prozessen kann die Aktivität des Akut-Phasen-Proteins C1-INH weit über dem Normalwert liegen. Daher empfiehlt es sich, Proben mit Werten über 115% C1-INH 1:22 verdünnt nochmals zu testen.

ANALYSENERGEBNISSE

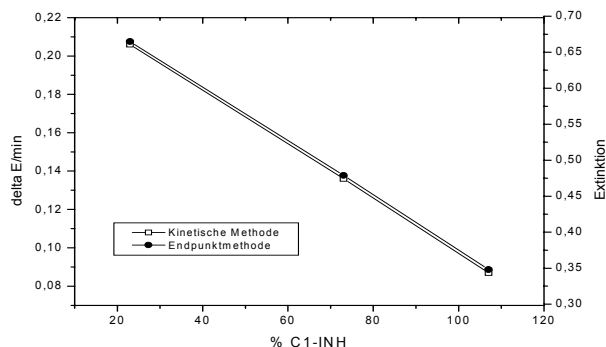
BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Zur Erstellung der Bezugskurve werden 3 geometrische Verdünnungen des Coagulation Reference und ein Reagenzienleerwert (=Probenpuffer A) getestet.

Mit dem Coagulation Reference wird eine 1:11 Vorverdünnung (0,05 mL Plasma + 0,50 mL Puffer A) mit Probenpuffer A hergestellt. Von dieser Verdünnung wird eine geometrische Verdünnungsreihe (1:1, 1:2, 1:4) erstellt (die 1:1 Angabe entspricht der 1:11 Vorverdünnung) und wie eine Probe im Testansatz eingesetzt. Die Extinktionen (E) bzw. die Extinktionszunahmen (ΔE/min) der drei Verdünnungsstufen werden auf Millimeterpapier als Werte für 120%, 60% und 30 % aufgetragen und linear verbunden. Der Reagenzienleerwert kann für die Bezugskurve als 0% C1-INH Wert verwendet werden.

Die beiden Kontrollplasmen Coagulation Control A und N werden wie Proben mit dem Probenpuffer A 1:11 (0,05 mL Plasma + 0,50 mL Puffer A) verdünnt und direkt auf der Eichkurve abgelesen. Die abgelesenen Werte müssen innerhalb des am Etikett aufgedruckten % Bereichs liegen.

Beispiel: Manuelle Methode (Kinetische- und Endpunktmethode)



Alle 1:11 verdünnten Proben können direkt auf der Bezugskurve abgelesen werden. Bei anderen Probeverdünnungen als 1:11 können die auf der Bezugskurve abgelesenen Aktivitäten in % wie folgt umgerechnet werden:

$$\frac{\% \text{ C1-INH (Bezugskurve)}}{11} \times \text{gewählte Verdünnung} = \% \text{ C1-INH der Probe}$$

Alle auf der Bezugskurve abgelesenen C1-INH-Aktivitäten 1:22 verdünnter Proben müssen mit dem Faktor 2 multipliziert werden.

REFERENZBEREICHE

0,70-1,30 E. C1-INH/mL (70 – 130 % der Norm)

STANDARDISIERUNG

1 Einheit C1-INH ist äquivalent jener C1-Esterase-Inhibitor-Aktivität, die durchschnittlich in 1 mL frischem normalen Citratplasma vorhanden ist.

LITERATUR

Bitte wenden Sie sich an Technoclone oder an Ihren Distributor.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

APPLICAZIONE

Diagnosi dell'edema angionevrotico ereditario (HANE). L'inibitore del C1-esterasi (C1-INH) è una proteina che inibisce diverse proteasi di serina nel sistema del complemento, nel sistema callicreina-chinina, nella cascata di coagulazione e nella fibrinolisi.

PRINCIPIO DEL TEST

C1-esterasi + C1-INH → [C1-esterasi.C1-INH] + C1-esterasi (in eccesso) (non reagito)

C₂H₅CO-Lys(ε-Cbo)- Gly-Arg-pNA + H₂O (C1-esterasi) → C₂H₅CO-Lys(ε-Cbo)- Gly-Arg-OH + pNA

COMPOSIZIONE

Kit di reattivi per 30 determinazioni fotometriche dell'inibitore del C1-esterasi:

mL	Reattivi	Altri dati
1 x 3	Substrato C1-1	18 µmol, AcOH. C ₂ H ₅ CO-lys (ε-Cbo)-Gly-Arg-pNA, p.m. = 729,8
1 x 3	C1-esterasi	umano
1 fl.	Coagulation Reference per C1-INH	~ 120% (~ 1,2 U C1-INH/mL) (vedere etichetta per volume a dissolvere)
1 x 1	Coagulation Control A per C1-INH	Plasma anormale liofilizzato
1 x 1	Coagulation Control N per C1-INH	Plasma normale liofilizzato
1 x 25	Tampone A campione	Tampone Tris (6,1 g/L)-NaCl (15 g/L)- pH 7,4
1 x 20	Tampone B reazione	Tampone Tris (6,1 g/L)-NaCl (15 g/L)- pH 8,5

MATERIALI ADDIZIONALI NECESSARI (non inclusi nel kit)

- Pipette
- Acqua distillata
- Necessario per la determinazione end-point: acido acetico 50%

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Da usare solamente come diagnostico *in vitro*
- Tutti i derivati da sangue o plasma umano come pure i campioni di sangue o plasma devono essere considerati potenzialmente infettivi e devono essere maneggiati con la dovuta attenzione e in accordo con le norme di sicurezza specifiche e devono essere smaltiti nello stesso modo dei rifiuti ospedalieri.
- Questo lotto di reattivi prodotto da sangue umano come pure ogni singolo campione di plasma utilizzato per tale scopo risultano negativi al test per l'Hb_sAg e gli anticorpi anti-HIV 1/2 e anti-HCV. Tutti i derivati di sangue o plasma umano come pure i campioni di sangue o plasma devono essere considerati potenzialmente infettivi e devono essere maneggiati con la dovuta attenzione e in accordo con le norme di sicurezza specifiche.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Tutti i reattivi conservati nei flaconi integri a +2...8°C possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

Stabilità dopo ricostituzione:

I reattivi ricostituiti si mantengono stabili per 6 ore alla temperatura data sotto la voce „esecuzione“. I reattivi ricostituiti possono essere congelati a -20°C una sola volta. Il coperchio deve essere ben chiuso durante la conservazione. I reattivi congelati dovranno essere usati entro 1 mese.

ESECUZIONE DEL TEST

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI DI PLASMA

Separazione del plasma:

Miscelare 9 parti di sangue venoso con una parte di soluzione di sodio citratato (0,11 mol/l) e centrifugare per 15 min. a almeno 2500 gpm (corrispondente a 58905 DIN). Il campione di plasma può essere conservato a temperatura ambiente fino a 3 ore, altrimenti bisogna congelare il campione subito dopo la centrifugazione. Stabilità a -20°C: 1 mese.

Preparazione dei campioni di plasma:

Diluire i campioni di plasma, prima di eseguire il test, con il tampone A in rapporto di 1:11 (0,05 ml di campione + 0,50 ml di tampone A). I campioni con attività C1-INH > 115% dovranno essere diluiti 1:22.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Tutti i reattivi, compresa l'acqua distillata, devono essere portati a temperatura ambiente prima dell'uso. Ricostituire i reattivi liofilizzati con la quantità di acqua distillata indicata e usare dopo 10 min. Nelle prove di standardizzazione si raccomanda un tempo di ricostituzione di 30 minuti.

ESECUZIONE DEL TEST

Tenere il C1-esterasi ed il campione diluito a temperatura ambiente, la miscela substrato-tampone a 37°C. La misurazione viene effettuata a 37°C.

Miscelare il substrato C1-1 con il tampone B:

Determinazione cinetica		Determinazione end-point
1 parte 5 parti	substrato C1-1 tampone B	1 parte 4 parti

Schema di pipettaggio: pipettare in provette o cuvette di plastica.

Determinazione cinetica		Determinazione end-point
100 µL 100 µL	campione diluito C1-esterasi	100 µL 100 µL
5 min.	incubare a 37°C	5 min.
600 µL	miscela substrato-tampone	500 µL
	incubare a 37°C	3 min.
Misurare l'aumento di estinzione a 405 nm ed a 37°C. La reazione ha un decorso lineare per 4 minuti.	acido acetico 50%	200 µL
		Misurare l'aumento di estinzione a 405 nm contro bianco.

LIMITAZIONE DEL TEST

Nei processi infiammatori l'attività proteica C1-INH nella fase acuta può risultare molto al di sopra del valore normale. Si consiglia di testare ulteriormente i campioni con attività C1-INH superiore al 115% con una diluizione 1:22.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

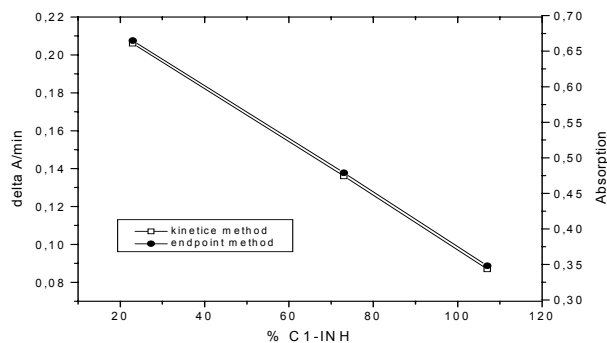
CALCOLAZIONE DEI RISULTATI

Per eseguire la curva di riferimento si testano 3 diluizioni geometriche del Coagulation Reference e un valore del bianco (=tampone A per il campione).

Prediluire il Coagulation Reference con tampone A in rapporto di 1:11 (0,05 mL di plasma + 0,50 mL di tampone A). Utilizzare questa prediluizione per preparare una serie geometrica di diluizioni (1:1, 1:2, 1:4) con il tampone A e testare come un campione. L'indicazione 1:1 corrisponde alla prediluizione 1:11. Riportare l'estinzione (E) per il metodo end-point e l'aumento di estinzione (ΔE/min) per il metodo cinetico dei tre diluizioni su carta millimetrata come valori per 120%, 60% e 30% ed unire i punti in modo lineare. Il valore del bianco del reattivo può essere utilizzato per la curva di calibratura come valore di 0% C1-INH.

Diluire i due plasma di controllo Coagulation Control A e N con tampone A 1:11 come i campioni (0,05 mL di plasma + 0,50 mL di tampone A) e leggere direttamente sulla curva di calibratura. I valori letti dalla curva devono trovarsi entro i valori normali riportati sull'etichetta.

Esempio: metodo manuale (metodo cinetico e metodo end-point)



I campioni diluiti 1:11 possono essere letti direttamente sulla curva di calibratura. Se si usa un rapporto di diluizione diverso da 1:11, i livelli percentuali dell'attività letti sulla curva di calibratura devono essere convertiti con la seguente formula:

$$\frac{\% \text{ C1-INH (curva di calibratura)}}{11} \times \text{diluizione scelta} = \% \text{ C1-INH del campione}$$

Pertanto l'attività di C1-INH dei campioni diluiti 1:22 è doppia rispetto al valore desunto dalla curva di calibratura.

VALORI NORMALI

0,70-1,30 U. C1-INH/mL (70 – 130 % del normale)

STANDARDIZZAZIONE

1 unità di C1-INH corrisponde all'attività media del C1-esterasi-inibitore presente in 1 mL di plasma fresco normale citratato.

BIBLIOGRAFIA

Per favore rivolgersi a Technoclone o alla concessionaria.

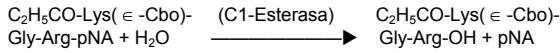
DESCRIPCION DEL PRODUCTO

APLICACIÓN

Diagnóstico del edema angioneurótico hereditario (EANH). El inhibidor de la C1-esterasa (C1-INH) es una proteína reguladora que funciona como un inhibidor de varias serin proteasas en el sistema del complemento, el sistema de calicreína-cinina, la cascada de coagulación y en la fibrinólisis.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

C1-Esterasa + C1-INH → [C1-Esterasa.C1-INH] + C1-Esterasa (resto) (Exceso)



COMPOSICIÓN

Kit reactivo para 30 determinaciones fotométricas del inhibidor de la C1-esterasa:

mL	reactivo	otros datos
1 x 3	Substrato C1-1	18 µmol, AcOH. C ₂ H ₅ CO-lys (ε -Cbo)-Gly-Arg-pNA, p.m. = 729.8
1 x 3	C1-Esterasa	humana
1 frasco	Coagulation Reference para C1-INH	~120% bzw. 1.2 E C1-INH/mL (Véase la etiqueta para el volumen de reconstitución)
1 x 1	Coagulation Control A para C1-INH	Plasma anormal liofilizado
1 x 1	Coagulation Control N para C1-INH	Plasma normal liofilizado
1 x 25	tampón de muestra A	Tris (6.1 g/L)-NaCl (15 g/L) - tampón pH 7.4
1 x 20	tampón de reacción B	Tris (6.1 g/L)-NaCl (15 g/L) - tampón pH 8.5

MATERIAL NECESARIO (no se suministra con el kit)

- Pipetas
- Agua destilada
- Para la determinación del punto final: 50% ácido acético

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES

- Sólo para su uso en el diagnóstico *in vitro*
- Todos los productos sanguíneos y plasmáticos de origen humano se deben considerar como potencialmente infecciosos. Deben tratarse con las debidas precauciones siguiendo los reglamentos vigentes relativos a la seguridad biológica. Los desechos deberán eliminarse de la misma manera que se eliminan los desechos en los hospitales.
- Toda muestra de plasma así como los controles de coagulación son analizados para Hbs-Ag, HIV 1/2 Ac, HCV Ac y encefalogramas negativos. De conformidad con las normas de seguridad vigentes, deberán tomarse todo tipo de precauciones con respecto a los productos plasmáticos y considerarse potencialmente infecciosos.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los reactivos se deben conservar a una temperatura de entre 2...8° C y utilizar antes de la fecha indicada en las etiquetas.

Estabilidad después de la reconstitución:

Los reactivos reconstituidos son estables durante 6 horas a la temperatura de la reacción. Los reactivos reconstituidos se pueden almacenar a -20°C. Los frascos se pueden congelar solamente una vez. Para un buen almacenaje, todos los frascos deben estar perfectamente cerrados. Los reactivos congelados se deben utilizar en el plazo de un mes.

PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR LA PRUEBA

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS

Separación del plasma:

Mezclar 9 partes de sangre venosa y 1 parte de solución de citrato sódico (0.11 mol/L) y centrifugar durante 15 minutos a más de 2500 FCR (fuerzas centrifugas radiales) (de conformidad con DIN 58905). La muestra plasmática no se debe conservar a temperatura ambiente durante más de 3 horas, en caso contrario la muestra se deberá congelar inmediatamente después de la centrifugación. (Estabilidad a una temperatura de -20° C: 1 mes)

Preparación de la muestra:

Antes de la llevar a cabo la prueba se diluyen las muestras plasmáticas con tampón de muestra A en una proporción de 1:11 (0.05 mL de plasma + 0.50 mL de tampón de muestra A). Muestras con una actividad de C 1-INH > 115% se deben diluir 1:22.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos reactivos incluida el agua destilada deberán alcanzar la temperatura ambiente antes de ser utilizados. Los reactivos liofilizados se diluyen en el volumen indicado de agua destilada y pueden utilizarse después de transcurridos 10 minutos. En las pruebas de estandarización se recomienda un tiempo de reconstitución de 30 minutos.

REALIZACIÓN DE LA PRUEBA

La C1-Esterasa y la muestra diluida deberán mantenerse a la temperatura ambiente, el substrato preparado con el tampón a 37° C. Las determinaciones se realizan a 37°C.

Se mezcla el substrato C1-1 con tampón de reacción B:

Determinación cinética		Determinación del punto final
1 parte 5 partes	Substrato C1-1 tampón de reacción B	1 parte 4 partes

Esquema de pipeteado: Pipetea en un tubo o cubeta de plástico.

Determinación cinética		Determinación del punto final
100 µL 100 µL	Muestra diluida C1-Esterasa	100 µL 100 µL
5 minutos	incubación 37°C	5 minutos
600 µL	Substrato-mezcla de tampón	500 µL
	incubación 37 °C	3 minutos
El incremento en la extinción se mide a 405 nm a 37°C. Durante 4 minutos la reacción es lineal.	ácido acético 50%	200 µL
		La extinción se mide a 405 nm contra el blanco

LIMITACION DE LA PRUEBA

En los procesos inflamatorios la actividad de la proteína de fase aguda C1-INH puede ser mucho más alta que el valor de referencia. Se recomienda realizar una segunda prueba de las muestras con valores de más de un 115% de C1-INH en una dilución de 1:22.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

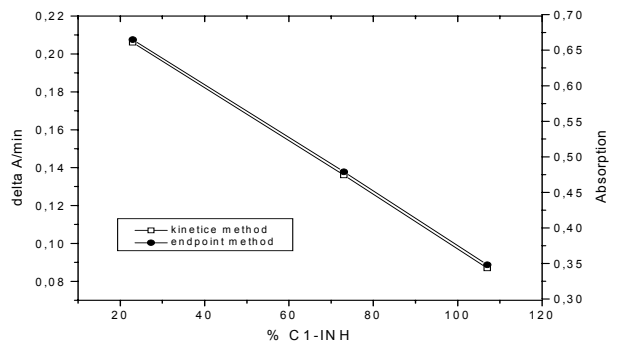
CALCULO DE LOS RESULTADOS

Para establecer una curva de referencia se preparan y testan 3 diluciones seriadas del standard de Coagulation Reference junto con un blanco (tampón de muestra A) y se leen.

Se diluye previamente el standard de Coagulation Reference 1:11 con tampón de muestra A (0.05 mL plasma + 0.50 mL tampón A). Con esa dilución previa se prepara una serie de diluciones (1:1, 1:2, 1:4) también con tampón de muestra A (la dilución de 1:1 corresponde a una dilución previa de 1:11). Esa serie se deberá probar de la misma manera que una muestra en la prueba. El incremento de absorción (ΔA/min) en el método cinético o la absorción en el punto final se trazan en papel milimetrado como valores de 120%, 60% y 30% de C1-INH y se unen para formar una curva de calibración lineal. El valor del reactivo blanco se puede utilizar en la curva de referencia como valor de 0% de C1-INH.

Los plasmas de control relativos al Control de Coagulation Control A y N se diluyen directamente 1:11 (0.05 mL plasma + 0.50 mL tampón A) y se pueden leer directamente de la curva de referencia. Los valores deberán encontrarse entre los límites indicados en la etiqueta.

Ejemplo: Método manual (cinética y punto final)



Todas las muestras diluidas 1:11 se leen directamente en la curva de calibración. En las muestras diluidas distintas a 1:11 el porcentaje de actividad se lee en la curva de calibración y es representado de la siguiente manera:

$$\frac{\% C1-INH (curva de calibración)}{11} \times \text{dilución elegida} = \% C1-INH \text{ en la muestra}$$

La actividad C1-INH de una muestra diluida 1:22 es consecuentemente dos veces el valor que se lee en la curva de calibración.

LÍMITES DE REFERENCIA

0.70-1.30 U C1-INH. (70 - 130% de la norma)

ESTANDARIZACIÓN

1 unidad C1-INH corresponde a una actividad media del inhibidor de C1-esterasa encontrado en 1mL de plasma normal recientemente citratado.

BIBLIOGRAFÍA

Sírvase dirigirse a Technoclone o a su distribuidor local para obtener la bibliografía al respecto o las aplicaciones técnicas de las pruebas.

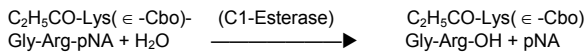
DESCRIÇÃO DO PRODUTO

APLICAÇÃO

Diagnóstico de edema angioneurótico hereditário (HANE)
 O inibidor da C1-esterase (C1-INH) é uma proteína reguladora que funciona como um inibidor de várias proteases de serina no sistema do complemento, no sistema de calicreína-quinina, na cascata de coagulação e na fibrinólise.

PRINCÍPIO DO TESTE

C1-Esterase + C1-INH → [C1-Esterase.C1-INH] + C1-Esterase (resto) (excesso)



COMPOSIÇÃO

Conjunto de reagentes para 30 determinações fotométricas do inibidor da C1-Esterase.

mL	reagente	outros dados
1 x 3	Substrato C1-1	18 µmol, AcOH. C ₂ H ₅ CO-Lys(∈ -Cbo)-Gly-Arg-pNA, p.m. = 729.8
1 x 3	C1-Esterase	humana
1 Fl.	Coagulation Reference para C1-INH	ca. 120% = 1.2 U C1-INH/mL (Ver rótulo para volume de reconstituição)
1 x 1	Coagulation Control A para C1-INH	Plasma anormal liofilizado
1 x 1	Coagulation Control N para C1-INH	Plasma normal liofilizado
1 x 25	Tampão de amostra A	Tampão Tris (6,1 g/L)-NaCl (15g/l) pH 7.4
1 x 20	Tampão de reacção B	Tampão Tris (6,1 g/L)-NaCl (15g/l) pH 8.5

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido com o kit)

- Pipetas
- Água destilada
- Para o método de ponto final: Ácido acético a 50%

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Apenas para utilização no diagnóstico *in vitro*.
- Todas as amostras de sangue ou plasma e produtos devem ser considerados como potencialmente infecciosos e manuseados com o cuidado adequado e em cumprimento com as normas de biosegurança em vigor e têm que ser eliminados da mesma forma que o lixo hospitalar.
- Cada plasma individual e cada lote de "Coagulation Control" foram testados e considerados Ag HB_s, Ac HIV 1/2 e Ac HCV negativos. No entanto, devem ser praticadas precauções universais (tratar todos os materiais de origem humana como potencialmente infecciosos).

ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO

A data de validade impressa nos rótulos aplica-se ao armazenamento dos frascos fechados entre +2 e 8°C.

Estabilidade após a reconstituição:

Os reagentes reconstituídos são estáveis durante 6 hrs. à temperatura de reacção.
 Os reagentes reconstituídos podem ser armazenados a -20°C.
 Os frascos só podem ser congelados uma vez. Antes de armazenar, as tampas dos frascos devem ser firmemente fechadas.
 Os reagentes congelados devem ser usados dentro de um mês.

PROCEDIMENTO DO TESTE

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLASMA

Separação do plasma:

Misturar 9 partes de sangue venoso com 1 parte de solução de citrato de sódio (0,11 mol/L) e centrifugar durante 15 minutos a pelo menos 2500 de FCR (correspondente à DIN 58905). A amostra de plasma não pode ser armazenada à temperatura ambiente durante mais que 3 horas; caso contrário, a amostra tem que ser congelada imediatamente após a centrifugação.

Preparação da amostra:

Antes do teste as amostras de plasma são diluídas com o Tampão de Amostra A numa proporção de 1:11 (0,05 mL de amostra + 0,50 mL de Tampão A). As amostras com actividade C1-INH > 115% devem ser diluídas 1:22.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Todos os reagentes, incluindo a água destilada, devem estar à temperatura ambiente antes de serem utilizados. Os reagentes liofilizados são dissolvidos no volume indicado de água destilada e estão prontos a ser usados após 10 minutos. Para os testes de padronização recomenda-se um tempo de reconstituição de 30 min.

REALIZAÇÃO DO TESTE

A C1-Esterase e a amostra diluída são mantidas à temperatura ambiente, a mistura Tampão-Substrato a +37°C. As medições serão feitas a 37°C.

Misturar o Substrato C1-1 com o Tampão de Reacção B:

Determinação cinética		Determinação ponto final
1 parte 5 partes	Substrato C1-1 Tampão de Reacção B	1 parte 4 partes

Esquema de pipetagem: Pipetar nos tubos ou cuvetes de plástico.

Determinação cinética		Determinação ponto final
100 µL 100 µL	amostra diluída C1-Esterase	100 µL 100 µL
5 minutos	Incubação a 37°C	5 minutos
600 µL	Mistura tampão-substrato	500 µL
O aumento da extinção é medido a 405 nm a 37°C. Durante 4 min. a reacção é linear.	Incubação a 37°C	3 minutos
	Ácido acético 50%.	200 µL
		A extinção é medida a 405 nm contra branco.

LIMITAÇÕES DO TESTE

Nos processos inflamatórios a actividade da proteína de fase aguda C1-INH pode estar muito acima do valor normal. Recomenda-se a repetição do teste com uma diluição de 1:22 para as amostras com valores acima de 115% de C1-INH.

RESULTADOS DAS ANÁLISES

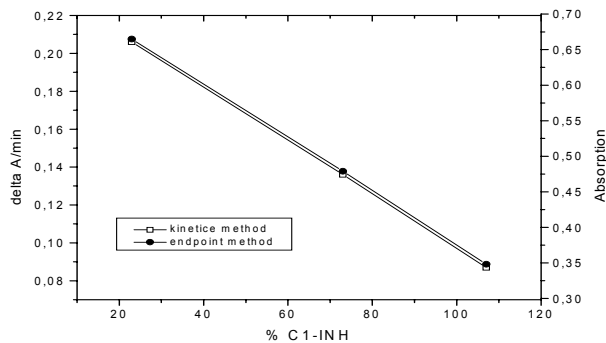
CÁLCULO DOS RESULTADOS

Para estabelecer uma curva de calibração, são preparadas 3 diluições seriadas do Coagulation Reference e testadas juntamente com a leitura de um branco opcional (tampão de amostra A).

Pré-diluir o Coagulation Reference 1:11 com o tampão de amostra A (0,05 ml de plasma + 0,50 ml de tampão A). A partir desta pré-diluição preparar uma série de diluições (1:1, 1:2, 1:4) também com tampão de amostra A (a diluição 1:1 corresponde à pré-diluição 1:11). Esta série deve ser testada da mesma forma que uma amostra. O aumento da absorção (ΔA/min) no método cinético ou a absorção (A) no método ponto final, são marcados em papel milimétrico como as leituras para 120%, 60% e 30% de C1-INH, e ligados para formar uma curva de calibração linear. A leitura do branco pode ser usada para a curva de referência como o valor de 0% de C1-INH.

Os plasmas de controlo, Coagulation Control A e N, são pré-diluídos 1:11 (0,05ml de plasma + 0,50ml de Tampão A) com o tampão de amostra A e podem ser lidos directamente a partir da curva de calibração. Os valores devem ficar dentro dos limites de confiança impressos no rótulo do plasma de controlo.

Exemplo: Método manual (método cinético e ponto final):



Todas as amostras diluídas 1:11 podem ser lidas directamente a partir da curva de calibração. Para amostras diluídas em outra proporção diferente de 1:11, a % de actividade lida a partir da curva de calibração, deve ser convertida como segue:

$$\frac{\% \text{ C1-INH (curva de calibração)}}{11} \times \text{diluição seleccionada} = \% \text{ C1-INH da amostra}$$

Assim, nas amostras diluídas 1:22 a actividade C1-INH é duas vezes o valor lido a partir da curva de calibração.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

0.70-1.30 U C1-INH/ml (70 – 130 % do normal)

PADRONIZAÇÃO

1 unidade de C1-INH corresponde à actividade inibidora média da C1-esterase presente em 1 ml de plasma normal citratado fresco.

LITERATURA

Por favor entrar em contacto com a Technoclone ou com o seu distribuidor local para obter literatura ou aplicações técnicas para o teste.

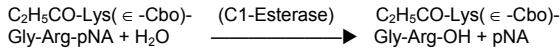
DESCRIPTION DU PRODUIT

APPLICATION

Diagnostic de l'œdème héréditaire d'angioneurotique (HANE). L'inhibiteur de C1-esterase (C1-INH) est une protéine de normalisation qui fonctionne comme inhibiteur de plusieurs protéases de sérine dans le système de complément, le système de kallikrein-kinine, la cascade de coagulation et dans la fibrinolyse.

PRINCIPE DU TEST

C1-Esterase + C1-INH → [C1-Esterase.C1-INH] + C1-Esterase (rest) (excès)



COMPOSITION

Pour 30 dosages photométriques de l'inhibiteur de C1-estérase :

mL	réactif	caractéristique
1 x 3	Substrat C1-1	18 µmol, AcOH. C ₂ H ₅ CO-lys (ε -Cbo)-Gly-Arg-pNA, p.m. = 729.8
1 x 3	C1-Esterase	humaine
1 fl.	Coagulation Reference pour C1-INH	ca. 120% bzw. 1.2 E C1-INH/mL (voir l'étiquette pour le volume à dissoudre)
1 x 1	Coagulation Control A pour C1-INH	Plasma humain citrate et lyophilisé, anormal
1 x 1	Coagulation Control N pour C1-INH	Plasma humain citrate et lyophilisé, normal
1 x 25	Tampon d'épreuve A	Tris (6.1 g/L)-NaCl (15 g/L)-tampon pH 7.4
1 x 20	Tampon de réaction B	Tris (6.1 g/L)-NaCl (15 g/L)-tampon pH 8.5

MATÉRIEL NÉCESSAIRE (non fourni avec le kit)

- Pipettes
- Eau distillée
- Pour la détermination au point final : acide acétique 50%

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- IVD pour l'usage diagnostique *in vitro*
- Tous les produits sanguins ou plasmatiques d'origine humaine, ainsi que les échantillons de sang ou de plasma, doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec les précautions nécessaires relatives aux règles de sécurité.
- Tout don de sang individuel prévu pour la préparation de plasma est soumis à des tests de l'antigène des surface de l'Hépatite B, de l'anticorps anti-VIH 1 et de l'anticorps anti VIH 2. Seuls les dons trouvés négatifs ont été utilisés. Néanmoins, toutes les préparations obtenues à partir de sang humain doivent être manipulées avec les précautions nécessaires en cas de risque biologique, dans la mesure où l'on ne peut exclure totalement un risque infection.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Les réactifs, conservés dans leur flacon non ouvert et 2...8 °C, peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Stabilité après reconstitution :

La stabilité des réactifs reconstitués est de 6 heures sous les températures indiquées lors de la réalisation du test. Il est possible de congeler les réactifs reconstitués une fois à -20°C. Les bouchons doivent être bien resserrés pendant la conservation. Les réactifs congelés doivent être utilisés pendant un mois.

REALISATION DU TEST

PREPARATION DU PLASMA

Séparation du plasma:

Pour l'obtention du plasma, prélever 1 volume de solution de citrate sodium (0.11 mol/L) avec 9 volumes de sang veineux, et mélanger avec précaution en évitant la formation de mousse. Centrifuger aussitôt pendant au moins 15 min à au moins 2500 FCR (force centrifuge radial) (correspondant à DIN 585905). L'échantillon de plasma peut être gardé pendant 3 heures avec la température ambiante, sinon l'échantillon doit être gelé immédiatement après des centrifugation. Stabilité à -20°C: 1 mois.

Préparation d'échantillon:

Les échantillon de plasma sont dilués avant la réalisation du test 1:11 avec le tampon échantillon A (0.05 mL échantillon + 0.50 mL tampon d'épreuve A). Pour les échantillons avec l'activité C1-INH >115 %, il est préférable de choisir la dilution 1:22.

RECONSTITUTION DU RÉACTIF

Les réactifs lyophilisés sont à dissoudre dans le volume indiqué d'eau distillée. Pour les tests de standardisation un temps de reconstitution de 30 min. est recommandé.

RÉALISATION DU TEST

La C1-Estérase et l'échantillon dilué sont tenus à température ambiante, le mélange substrat / tampon à 37°C. La mesure est effectuée à 37°C.

Mélanger le Substrat C1-1 avec le tampon de réaction B:

Détermination cinétique		Détermination au point final
1 volume 5 volumes	Substrat C1-1 tampon de réaction B	1 volume 4 volumes

Schéma de pipetage: Pipeter dans une tube ou cuve de plastique.

Détermination cinétique		Détermination au point final
100 µL 100 µL	échantillon dilué C1-Estérase	100 µL 100 µL
5 min.	incubation 37°C	5 min.
600 µL	mélange substrat / tampon	500 µL
L'accroissement de l'extinction est mesurée à 405 nm et à 37°C. La réaction passe linéairement pendant 4 minutes.	incubation 37 °C	3 min.
	acide acétique 50%	200 µL
		L'extinction est mesurée à 405 nm contre blanc.

LIMITATION DU TEST

En cas d'inflammation l'activité de la protéine-phase-aigue C1-INH peut être bien au dessus de la valeur normale. Il est donc recommandé de tester à nouveau les échantillons au-dessus de 115% C1-INH, à une dilution de 1:22.

INTERPRETATION DES RESULTATS

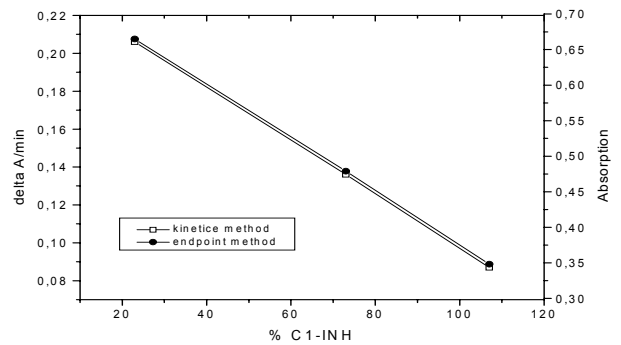
CALCUL DES RESULTATS

Pour la courbe de référence 3 dilutions géométriques du Coagulation Reference et une valeur de réactif blanc (= tampon d'épreuve A) sont testés.

Dissoudre le Coagulation Reference suivant les indications de l'étiquette avec le tampon échantillon A (1 partie de plasma de référence (0.05 mL) + 10 parties de tampon d'épreuve A (0.50 mL)) une prédilution 1:11. Utiliser cette prédilution pour préparer une série de dilutions linéaires (1:1, 1:2, 1:4) avec le tampon échantillon A et tester comme un échantillon. L'indication 1:1 correspond à la prédilution 1:11. Porter sur papier millimétré les extinctions (E) dans la méthode au point final et/ou les accroissements d'extinction (Δ E/min) dans la méthode cinétique, des 3 dilutions géométriques comme valeurs pour 120 %, 60 % et 30 % et lié les linéairement. La valeur de réactif blanc peut être utilisée pour la courbe comme valeurs de 0% C1-INH.

Les deux plasmas de contrôle Coagulation Control A et N pour C1-INH sont dilués comme des échantillons avec le tampon d'épreuve A 1:11 (0.05 mL plasma + 0.50 mL tampon d'épreuve A) et directement lu sur la courbe d'étalonnage. Les valeurs doivent se trouver dans le secteur % indiquer sur l'étiquette.

Exemple: méthode manuelle (cinétique et point final)



Comme contrôle additionnel, on peut déterminer en même temps la valeur en blanc de l'enzyme. Les échantillons dilués 1:11 sont lus directement sur la courbe d'étalonnage. Pour autres dilutions de l'échantillon, les % d'activité sont lus sur la courbe d'étalonnage est convertis comme suivant:

$$\frac{\% \text{ C1-INH (courbe d'étalonnage)}}{11} \times \text{dilution choisie} = \% \text{ C1-INH dans l'échantillon}$$

L'activité C1-INH d'un échantillon dilué 1:22 est donc deux fois la valeur lue sur la courbe d'étalonnage.

DOMAINES DE REFERENCE

0.70-1.30 U. C1-INH. (70 - 130% de la norme)

ÉTALONNAGE

1 Unité C1-INH correspond à l'activité inhibitrice d'estérase C1 dans 1 mL de plasma normal citrate frais.

BIBLIOGRAPHIE

Contactez Technoclone ou votre distributeur local.