



DCM016-15

Ed. 09/2024

CIC C1q ELISA

per analisi di routine

Determinazione immunoenzimatica diretta del CIC C1q nel siero o plasma umano

IVD

LOT

Vedere etichetta esterna

2°C 8°C

 $\Sigma = 96$ test

REF DKO016

1. SCOPO PREVISTO

Per uso diagnostico *in vitro*

Per uso professionale in laboratorio

Il dosaggio CIC C1q ELISA è un dispositivo diagnostico manuale *in vitro* destinato alla determinazione quantitativa di CIC C1q nel siero o nel plasma umano da una popolazione adulta.

2. SIGNIFICATO CLINICO

Il sistema del complemento è una cascata biochimica del sistema immunitario coinvolto nell'eliminazione degli agenti patogeni da un organismo. È composto da molte piccole proteine plasmatiche che cooperano per lisare la membrana plasmatica delle cellule estranee.

L'attivazione di questo sistema conduce a citolisi, chemotassi, all'opsonizzazione, e all'infiammazione, ed anche alla marcatura degli agenti patogeni per la fagocitosi. Il sistema del complemento consiste di 35 proteine solubili e proteine che legano le cellule, 12 di cui direttamente coinvolte nella via del complemento. Queste proteine rappresentano il 5% della frazione della globulina del siero. Le proteine del complemento sono sintetizzate principalmente dagli epatociti; gli importi significativi sono prodotti dai monociti, dai macrofagi e dalle cellule epiteliali dei tratti gastrointestinale ed urogenitale.

C1q è coinvolto nella via classica del complemento. La via classica è innescata dall'attivazione del complesso C1 (che consiste di una molecola C1q e di due molecole C1r e C1s); C1q lega gli anticorpi IgM e IgG, complessati con gli antigeni, o la superficie dell'agente patogeno.

Il sistema del complemento svolge un ruolo in molte malattie con una componente immune, quali la malattia dell'Alzheimer, la sindrome di Barraquer-Simons, l'asma, il lupus, le varie forme dell'artrite, malattie autoimmuni del cuore e la sclerosi a placche. La mancanza della via terminale predispone alle malattie autoimmuni e le infezioni (specialmente meningite).

Sono stati sviluppati molti test per la determinazione dei CIC, incluso il test di precipitazione al PEG, immunodiffusione radiale e test cellulari come il test di Ray cell. Non esiste una procedura capace di determinare tutti i tipi di immunocomplessi; esistono in commercio metodiche capaci di determinare i frammenti del complemento (es. C1q e C3d) che hanno un importante significato diagnostico.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il kit CIC-C1q ELISA è basato sul principio che gli immunocomplessi affini alla frazione C1q sono bloccati dal C1q immobilizzato sulla micropiastra.

Nella prima fase della procedura i campioni vengono aggiunti alla micropiastra coattata con C1q; segue un periodo di incubazione, durante il quale gli immunocomplessi affini alla frazione C1q si legano al C1q coattato alla micropiastra. Il lavaggio della micropiastra rimuove le proteine del campione non legate.

Nella seconda fase viene aggiunto il coniugato anti-human IgG legato a perossidasi di rafano (HRP), il quale si lega agli immunocomplessi ora fissati alla micropiastra. Il lavaggio rimuove il coniugato non legato.

Nella terza fase si aggiunge il TMB Substrato, che reagisce con il coniugato legato alla micropiastra generando una reazione colorimetrica. L'intensità di colore misurata a 450 nm è proporzionale ai livelli di CIC IgG.

La concentrazione di immunocomplessi presenti nel campione è determinata mediante una curva di calibrazione. I risultati sono espressi come heat aggregate gamma globuline umane per mL ($\mu\text{Eq/mL}$)

4. REATTIVI, MATERIALI E STRUMENTAZIONE

4.1. Reattivi e materiali forniti nel kit

1. Calibrators (3 flaconi, 1,5 mL ciascuno)

ProClin >0,0015%

CAL0

CAL1

CAL2

REF DCE002/1606-0

REF DCE002/1607-0

REF DCE002/1608-0

2. Controls (2 flaconi, 1,5 mL ciascuno, pronti all'uso)

Phosphate buffer 74 mM pH 7.4, BSA 0,5%, ProClin >0,0015%

Controllo Negativo

Controllo Positivo

REF DCE045/1601-0

REF DCE045/1602-0

3. Incubation Buffer (1 flacone, 50 mL)

Phosphate buffer 74 mM pH 7.4. ProClin >0,0015%

REF DCE008-0

4. Conjugate (1 flacone, 0,5 mL)

Anti human IgG coniugato con perossidasi di rafano (HRP).

ProClin >0,0015%, BSA 0,1%

REF DCE002/1602-0

5. Conjugate Buffer (1 flacone, 20 mL)

Phosphate buffer 74 mM pH 7.4. ProClin >0,0015%

REF DCE009-0

6. Coated Microplate (1 micropiastra breakable)
C1q adsorbito sulla micropiastra **REF DCE002/1603-0**

7. TMB Substrate (1 flacone, 15 mL)
H₂O₂-TMB (0,26 g/L) (*evitare il contatto con la pelle*).
ProClin <0,0015% **REF DCE004-0**

8. Stop Solution (1 flacone, 15 mL)
Acido Solforico 0,15 mol/L (*evitare il contatto con la pelle*)
REF DCE005-0

9. 10X Conc. Wash Solution (2 flaconi, 50 mL ciascuno)
0.2M Phosphate buffer, pH 7.4. ProClin >0,0015%
REF DCE054-0

4.2. Materiali richiesti ma non forniti

Acqua distillata

4.3. Materiali e strumentazione ausiliari

Erogatore automatico

Pipette di precisione

Lettore di micropiastre (450 nm, 620-630 nm)

5. AVVERTENZE

- Questo kit è destinato all'uso *in vitro* esclusivamente da parte di professionisti. Non per uso interno o esterno in esseri umani o animali.
- Utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale mentre si lavora con i reagenti forniti.
- Seguire le buone prassi di laboratorio (GLP, Good Laboratory Practice) per la manipolazione di emoderivati.
-  Tutto il materiale di origine umana utilizzato nella preparazione dei reagenti è stato testato e risultato negativo per gli anticorpi dell'HIV 1 e 2, HbsAg e HCV. Nessun metodo di prova, tuttavia, può offrire la completa garanzia che HIV, HBV, HCV o altri agenti infettivi siano assenti. Pertanto, i calibratori e i controlli devono essere manipolati allo stesso modo del materiale potenzialmente infettivo.
-  Il materiale di origine animale utilizzato nella preparazione del kit è stato ottenuto da animali certificati come sani e la proteina bovina è stata ottenuta da Paesi non infettati dalla BSE, ma tali materiali devono essere trattati come potenzialmente infettivi.
- Alcuni reagenti (calibratori, controlli, incubation buffer, coniugato, tampone coniugato e soluzione di lavaggio) contengono piccole quantità di ProClin™ 300 (>0,0015%, <0,06%) come conservante. Evitare il contatto con pelle o mucose.
- Classificazione secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1



Contiene: ProClin 300

Attenzione

Indicazioni di pericolo:

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

Consigli di prudenza:

P261 - Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi / proteggere gli occhi / proteggere il viso / proteggere l'udito.

P321 - Trattamento specifico (vedere istruzioni supplementari di pronto soccorso su questa etichetta).
P333+P313 - In caso di irritazione o eruzione della pelle: Consultare un medico.

P362+P364 - Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

- La Stop Solution è costituita da una soluzione di acido solforico diluito. L'acido solforico è velenoso e corrosivo e può essere tossico se ingerito. Per prevenire possibili ustioni chimiche, evitare il contatto con la cute e con gli occhi.
- Evitare l'esposizione del reagente TMB/H₂O₂ a luce solare diretta, metalli o ossidanti. Non congelare la soluzione.

6. PRECAUZIONI

- Attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi di pipettaggio forniti in questo protocollo. I dati sulle prestazioni qui rappresentati sono stati ottenuti utilizzando i reagenti specifici elencati in queste istruzioni per l'uso.
- Tutti i reagenti devono essere conservati refrigerati a 2-8 °C nel contenitore originale. Tutte le eccezioni sono chiaramente indicate.
- Lasciare che tutti i componenti del kit e i campioni raggiungano la temperatura ambiente (22-28 °C) e mescolare bene prima dell'uso.
- Non scambiare i componenti di kit di lotti diversi. La data di scadenza stampata sulle etichette della confezione e delle fiale deve essere rispettata. Non utilizzare alcun componente del kit dopo la data di scadenza.
- Se si utilizzano apparecchiature automatizzate, l'utente ha la responsabilità di assicurarsi che il kit sia stato adeguatamente convalidato per il suo utilizzo/scopo previsto.
- La rimozione incompleta o imprecisa del liquido dai pozzetti potrebbe influenzare la precisione del dosaggio e/o aumentare il background. Per migliorare le prestazioni del kit sui sistemi automatici, si raccomanda di aumentare il numero di lavaggi.
- È importante che il tempo di reazione in ogni pozzetto sia mantenuto costante per ottenere risultati riproducibili. Il pipettaggio dei campioni non deve andare oltre i dieci minuti per evitare deviazioni del dosaggio. Se sono necessari più di 10 minuti, seguire lo stesso ordine di erogazione. Se si utilizza più di una piastra, si raccomanda di ripetere la curva dose-risposta in ogni piastra.
- L'aggiunta della soluzione di substrato TMB avvia una reazione cinetica, che viene terminata dall'aggiunta della soluzione di arresto. Pertanto, il substrato TMB e la soluzione di arresto devono essere aggiunti nella stessa sequenza per eliminare qualsiasi deviazione temporale durante la reazione.
- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori medici analizzando i controlli e/o i sieri in pool.
- La massima precisione è richiesta per la ricostituzione e l'erogazione dei reagenti.
- I campioni microbiologicamente contaminati, altamente lipemici, itterici o emolizzati non devono essere utilizzati nel dosaggio.
- I lettori di piastre misurano verticalmente. Non toccare il fondo dei pozzetti.
- AVVERTENZA: il reagente coniugato è progettato per garantire la massima sensibilità per la dose e può essere contaminato da agenti esterni se non utilizzato correttamente;** pertanto, si raccomanda di utilizzare materiali di consumo monouso (puntali,

flaconi, vassoi, ecc.). Per le dosi divise, prelevare l'esatta quantità di coniugato necessaria e non reintrodurre alcun prodotto di scarto nel flacone originale. Inoltre, **per le dosi erogate con l'ausilio di dispositivi automatici e semiautomatici**, prima di utilizzare il coniugato, è consigliabile pulire il sistema per la gestione dei fluidi, assicurandosi che le procedure di lavaggio, deproteinizzazione e decontaminazione siano efficaci per evitare la contaminazione del coniugato; questa procedura è altamente raccomandata quando il kit viene elaborato con analizzatori non dotati di puntali monouso.

A tale scopo, DiaMetra fornisce un reagente di decontaminazione separato per la pulizia degli aghi.

- Quando si pipettano i reagenti del dosaggio, compresi campioni, calibratori e controlli, è necessario utilizzare puntali monouso nuovi per ridurre il rischio di contaminazione da carryover. In caso contrario, i risultati potrebbero non essere validi.

7. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Conservare il kit a 2-8 °C, al buio.

- Il kit è stabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del kit.
- Una volta aperto, il kit è stabile a 2-8 °C per 6 mesi*.
- La soluzione di lavaggio diluita è stabile per 30 giorni a 2-8 °C.

* i dati sulla stabilità in uso supportano la stabilità del reagente se utilizzato tre volte entro questo periodo.

Nota importante: aprire il sacchetto contenente la micropiastre rivestita solo quando è a temperatura ambiente e chiuderlo immediatamente dopo l'uso.

8. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il dosaggio deve essere effettuato su campioni di siero (provette di campionamento standard o provette contenenti gel per la separazione del siero) o plasma (litio eparina, sodio eparina o EDTA di potassio).

Conservazione dei campioni	Durata
2-8 °C (siero & plasma)	24 ore
Cicli di congelamento/scongelamento (siero & plasma)	1 ciclo
-20 °C (siero & plasma)	6 mesi

9. PROCEDURA

9.1. Preparazione di calibratori e controlli

Prima dell'uso, miscelare delicatamente per 5 minuti con un miscelatore a rotazione. I calibratori sono pronti per l'uso e hanno le seguenti concentrazioni:

	C ₀	C ₁	C ₂
µgEq/mL	0	16	64

I controlli sono pronti per l'uso; la concentrazione del controllo è stampata sull'etichetta.

9.2. Preparazione del coniugato

Diluire il Conjugate (Reagente 4) 1:100 con il Conjugate buffer (reagente 5).

La quantità varia proporzionalmente secondo il numero di test da eseguire. Miscelare bene evitando la formazione di schiuma. Stabile per 3 ore a temperatura ambiente (22 – 28°C).

9.3. Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto della fiala "Soluzione di lavaggio conc. 10X" con acqua distillata fino a un volume finale di 500 mL prima dell'uso. Per i volumi più piccoli, rispettare il rapporto di diluizione 1:10.

È possibile osservare la presenza di cristalli all'interno della soluzione di lavaggio concentrata; in tal caso, mescolare a temperatura ambiente fino alla completa dissoluzione dei cristalli. Per una maggiore precisione, diluire l'intero flacone di soluzione di lavaggio concentrata a 500 mL, avendo cura anche di trasferire completamente i cristalli sciacquando il flacone, quindi mescolare fino a quando i cristalli non si dissolvono completamente.

9.4. Preparazione dei campioni

La determinazione dei CIC si effettua nel siero o plasma umano.

Tutti i campioni di siero o plasma devono essere prediluiti con incubation buffer (reagent 3)

Campione	10 µL
Incubation Buffer (reagente 3)	500 µL

Miscelare gentilmente. Evitare l'uso del vortex.

9.5. Procedura

- Lasciare che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (22-28 °C) per almeno 30 minuti.** Alla fine del dosaggio, conservare immediatamente i reagenti a 2-8 °C: evitare una lunga esposizione a temperatura ambiente.
- Le strisce di micropozzetti rivestiti non utilizzate devono essere rilasciate in modo sicuro nella busta di alluminio contenente l'essiccante e conservate a 2-8 °C.
- Per evitare potenziali contaminazioni microbiche e/o chimiche, i reagenti inutilizzati non devono mai essere trasferiti nelle fiale originali.
- Poiché è necessario eseguire la determinazione in duplicato per migliorare la precisione dei risultati del test, preparare due pozzetti per ogni punto della curva di calibrazione (C₀-C₂), due per ogni controllo, due per ogni campione, uno per il bianco.

Reagente	Calibratore	Campione/ Controlli	Bianco
Calibratore C ₀ -C ₂	100 µL		
Controlli		100 µL	
Campione diluito		100 µL	
Incubare per 30 minuti a 37°C ±0,5°C. Allontanare la miscela di reazione, lavare i pozzetti tre volte con 300 µL di wash solution diluita.			
Nota importante: durante ogni fase di lavaggio, agitare delicatamente la piastra per 5 secondi e rimuovere la soluzione in eccesso picchiettando la piastra capovolta su un tovagliolo di carta assorbente.			
Lavatore automatico: se si utilizzano apparecchiature automatiche, lavare i pozzetti almeno 5 volte.			
Coniugato diluito	100 µL	100 µL	
Incubare per 30 minuti a 37°C ±0,5°C.			
Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto, lavare i pozzetti 3 volte con 300 µL di soluzione di lavaggio diluita.			
Lavaggio: seguire le stesse indicazioni del punto precedente.			
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Incubare per 15 minuti, al buio, a temperatura ambiente (22-28 °C).			
Soluzione di arresto	100 µL	100 µL	100 µL
Agitare delicatamente la micropiastra. Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro una lunghezza d'onda di riferimento di 620-630 nm o contro il bianco entro 5 minuti.			

10. CONTROLLO QUALITÀ

Le buone prassi di laboratorio (GLP) richiedono l'inclusione di campioni per il controllo della qualità in ogni serie di dosaggi al fine di verificare le prestazioni del dosaggio. I controlli devono essere trattati come campioni sconosciuti e i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

I controlli forniti nel kit devono essere testati come se fossero sconosciuti e hanno lo scopo di agevolare la valutazione della validità dei risultati ottenuti in ogni piastra di dosaggio.

La concentrazione media di ciascun livello di controllo è documentata nel rapporto del controllo di qualità incluso in ciascun kit. Tali livelli di concentrazione media sono determinati in base a diversi dosaggi eseguiti in duplicato in più posizioni su ciascuna piastra.

DiaMetra raccomanda agli utenti di conservare le annotazioni grafiche dei valori di controllo generati con ciascun dosaggio, tra cui medie mobili, DS e % CV. Queste informazioni faciliteranno l'analisi delle tendenze dei controlli per quanto riguarda le prestazioni dei lotti di controllo attuali e pregressi rispetto ai dati forniti nel controllo di qualità. Le tendenze aiuteranno a identificare i dosaggi che generano

valori di controllo significativamente diversi dal rispettivo intervallo medio.

Quando si interpretano i dati dei controlli, occorre tenere conto del fatto che il prodotto è stato progettato e sviluppato come prodotto per l'utilizzo manuale. L'intervallo riportato sul certificato del controllo di qualità deve essere appropriato per i dosaggi eseguiti manualmente e rispettando rigorosamente la procedura di dosaggio descritta sopra. Gli esperti del controllo di qualità riconoscono che, a causa delle differenze di condizioni e di prassi, si avrà sempre una variabilità nei valori medi e nella precisione delle misurazioni dei controlli eseguite da laboratori diversi⁶.

11. CALCOLO DEI RISULTATI

Sono disponibili vari pacchetti software di elaborazione dei dati, che possono essere utilizzati per generare la curva di calibrazione media e per calcolare le concentrazioni medie di campioni e controlli sconosciuti. È necessario un adattamento della miglior curva passante **che includa il calibratore 0**. Gli altri algoritmi di adattamento della curva non sono raccomandati.

In alternativa, è possibile preparare una curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica tracciando un grafico con l'assorbanza media sull'asse delle ordinate e la concentrazione dell'analita sull'asse delle ascisse. Nella curva di calibrazione deve essere incluso il calibratore 0. Leggere il valore medio dell'assorbanza di ciascun campione sconosciuto dalla curva.

Affinché i risultati del dosaggio siano considerati validi, i calibratori e i controlli del kit devono rientrare nelle specifiche riportate nel certificato di analisi specifico del lotto.

In caso contrario, i risultati dei test associati non saranno validi e i campioni dovranno essere analizzati nuovamente.

12. INTERVALLO DI MISURAZIONE

L'intervallo di misurazione del dosaggio (AMR) è 3,9 – 36,2 µgEq/mL.

Qualsiasi valore inferiore 3,9 µgEq/mL deve essere indicato come "< 3,9 µgEq/mL". Qualsiasi valore superiore a 36,2 µgEq/mL deve essere indicato come "> 36,2 µgEq/mL".

13. INCERTEZZA DI MISURA

L'incertezza associata alla misura dei calibratori del dosaggio (C₀-C₂) è stata determinata secondo le linee guida CLSI EP29-A "Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline". L'incertezza per ciascun livello di calibratore è stata valutata per un minimo di 5 giorni (1 sessione al giorno) da 3 operatori diversi. Risultato relativo a un lotto rappresentativo:

Calibratore	Conc. media. (µgEq/mL)	Incetezza del calibratore U _c (µgEq/mL)
CAL0	< LoB	N/A
CAL1	16	2,0
CAL2	64	9,2

14. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

$\mu\text{gEq/mL}$ di IgG aggregate	Interpretazione
< 16	Il campione deve essere considerato negativo
16 – 18	Il campione deve essere classificato equivoco e la ripetizione dei test/campionamenti deve essere eseguita secondo le pratiche interne
> 18	Il campione deve essere considerato positivo

L'indice e l'interpretazione sopra indicati devono essere considerati esclusivamente come linee guida. I risultati positivi devono essere verificati relativamente all'intero stato clinico del paziente. Inoltre, ogni decisione per la terapia deve essere presa in base alle condizioni di ciascun paziente.

15. CARATTERISTICHE DI AZIONE

Sono mostrati i dati più rappresentativi delle prestazioni. I risultati ottenuti nei singoli laboratori possono variare.

15.1. Sensibilità e specificità

La sensibilità e la specificità sono state determinate in base al documento CLSI EP-24 "Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves" utilizzando 103 campioni negativi e 8 positivi eseguiti su un lotto di reagenti.

		DKO016		Totale
		Positivo	Negativo	
ELISA di riferimento	Positivo	7	1	8
	Negativo	3	100	103
Totale		10	101	111

Sensibilità: 88%

Specificità: 97%

15.2. Capacità di rilevamento

Il limite del bianco (LoB), il limite di rilevamento (LoD) e il limite della determinazione quantitativa (LoQ) sono stati definiti basandosi sulla procedura CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation" utilizzando 6 bianchi e 6 campioni a basso livello.

Sensibilità	Concentrazione
Limite del bianco (LoB)	0.4 $\mu\text{gEq/mL}$
Limite di rilevamento (LoD)	1.7 $\mu\text{gEq/mL}$
Limite della determinazione quantitativa (LoQ)	3.9 $\mu\text{gEq/mL}$

15.3. Esattezza

Poiché non è disponibile un materiale di riferimento certificato, l'esattezza è gestita attraverso la valutazione della sensibilità e della specificità: fare riferimento alla sezione 15.1.

15.4. Precisione

La precisione del dosaggio CIC C1q ELISA è stata determinata eseguendo un complesso studio di precisione.

Ripetibilità: un totale di 5 campioni di è stato analizzato in 5 repliche, una volta al giorno per 5 giorni da 3 operatori. I dati di un lotto rappresentativo sono mostrati di seguito:

Campione	n	Conc. media ($\mu\text{gEq/mL}$)	Ripetibilità	
			DS	% CV
1	75	6,1	0,9	14%
2	75	11,2	1,5	13%
3	75	22,2	2,1	10%
4	75	31,5	2,4	8%
5	75	54,4	5,6	10%

Riproducibilità: un totale di 6 campioni di è stato analizzato in 5 repliche, una volta al giorno per 5 giorni da 3 operatori. I risultati per i dati di un lotto rappresentativo sono mostrati di seguito:

Campione	n	Conc. media ($\mu\text{gEq/mL}$)	Ripetibilità	
			DS	% CV
1	75	6,1	1,1	18%
2	75	11,2	2,1	18%
3	75	22,2	3,3	15%
4	75	31,5	4,7	15%
5	75	54,4	6,7	12%

15.5. Linearità

La linearità è stata valutata in base al documento CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". È stata preparata una diluizione seriale di campioni di siero ad alta e bassa concentrazione.

Per la concentrazione di C1q mediante il CIC C1q ELISA, la procedura di misurazione mostra linearità per l'intervallo compreso tra 3,9 e 36,2 $\mu\text{gEq/mL}$ entro la deviazione ammissibile di linearità (ADL) di $\pm 15\%$.

15.6. Interferenti

Le seguenti sostanze non interferiscono con un bias $> \pm 15\%$ nel dosaggio CIC C1q ELISA quando le concentrazioni sono inferiori alla soglia dichiarata presentata nella tabella seguente.

Reagente potenzialmente interferente	Concentrazione di soglia
Bilirubina, coniugata	15 mg/dL
Bilirubina, non coniugata	15 mg/dL
Emoglobina	200 mg/dL
Proteine totali	8,3 g/dL
Trigliceridi	500 mg/dL

15.7. Studio su siero-plasma

È stato condotto uno studio di confronto tra matrici del test CIC C1q ELISA per valutare la differenza tra i tipi di provette: provette per la separazione del siero (SST), per plasma in litio eparina, per plasma in sodio eparina e plasma in K2 EDTA rispetto ai campioni di controllo (siero tappo rosso, senza additivo) secondo le linee guida CLSI EP35-Ed1 "Assessment of Equivalence or Suitability of Specimen Types for Medical Laboratory Measurement Procedures". È stato valutato un totale di 20 campioni per coprire l'intervallo di dosaggio. L'analisi di regressione lineare è stata effettuata su dati comparativi:

Tipo di campione	Pendenza [IC 95%]	Intercetta ($\mu\text{gEq/mL}$) [IC 95%]	Coefficiente di correlazione (r)
SST	1,09 [0,99 - 1,18]	-0,5 [-1,74 - 0,78]	0,99
Litio eparina	1,07 [0,96 - 1,17]	-1,0 [-2,40 - 0,45]	0,98
Sodio eparina	1,02 [0,88 - 1,17]	-0,4 [-2,37 - 1,64]	0,96
EDTA	1,09 [1,01 - 1,17]	-0,8 [-1,86 - 0,35]	0,99

16. LIMITAZIONI D'USO

- Come nel caso di qualsiasi procedura diagnostica, i risultati devono essere interpretati unitamente ai dati clinici del paziente e alle altre informazioni a disposizione del medico.
- Non sono state stabilite le caratteristiche di azione di questo dosaggio nella popolazione pediatrica.
- Gli anticorpi eterofili nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline dei reagenti, interferendo con gli immunodosaggi *in vitro*⁷. I pazienti regolarmente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero animale possono essere soggetti a questa interferenza, quindi si potrebbero osservare valori anomali.

17. GESTIONE DEI RIFIUTI

I reagenti devono essere smaltiti in conformità alle normative locali.

Tutti i materiali che sono entrati in contatto con i campioni e i reagenti devono essere smaltiti in conformità con le normative nazionali, regionali e locali.

18. BIBLIOGRAFIA

1. Triolo G., et al J.Clin.Lab.Immunol 13, 35-39 (1984)
2. Rong-jia Xu et al J.Immunol.Met. 135, 225-231(1990)
3. Menzel J.E.,et al J.Immunol. Met. 138, 16 (1991)
4. Muso E, et al Nippon Jinzo Gakkai Shi.36(4):345-54 (1994)
5. Yoshinoya S,et al J Clin Lab Immunol. 38(4):161-73 (1992)
6. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
7. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33

19. IDENTIFICATORE DELLE REVISIONI

Le aggiunte o le modifiche alle istruzioni per l'uso sono indicate dall'evidenziazione in grigio.

20. RECLAMI SUI PRODOTTI E SUPPORTO TECNICO

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e nei Paesi con un regime normativo simile (Regolamento 2017/746/UE relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*); se, durante l'uso di questo dispositivo o come risultato del suo utilizzo, si è verificato un incidente grave, segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità normativa nazionale.

Il produttore può essere contattato tramite il relativo servizio clienti o il team di supporto tecnico. I dettagli di contatto sono disponibili di seguito e sul sito Web dell'azienda: www.diametra.com.

Ed. 09/2024

DCM016-15



DCM016-15

Ed. 09/2024

CIC C1q ELISA

for routine analysis

Direct immunoenzymatic determination of CIC C1q in human serum or plasma

IVD

LOT

See external label

2°C 8°C

 $\Sigma = 96$ tests

REF DKO016

1. INTENDED PURPOSE

For *In Vitro* Diagnostic Use

For Laboratory Professional Use

CIC C1q ELISA is a manual *in vitro* diagnostic device intended for the quantitative determination of CIC C1q in human serum or plasma from an adult population.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

The complement system is a biochemical cascade of the immune system that helps clear pathogens from an organism. It is derived from many small plasma proteins that work together to form the primary end result of cytolysis by disrupting the target cell's plasma membrane.

Activation of this system leads to cytolysis, chemotaxis, opsonization, immune clearance, and inflammation, as well as the marking of pathogens for phagocytosis. The complement system consists of more than 35 soluble and cell-bound proteins, 12 of which are directly involved in the complement pathways. The proteins account for 5% of the serum globulin fraction. The complement proteins are synthesized mainly by hepatocytes; however, significant amounts are also produced by monocytes, macrophages, and epithelial cells in the gastrointestinal and genitourinary tracts.

C1q is involved in the classical complement pathway. The classical pathway is triggered by activation of the C1-complex (which consists of one molecule C1q and two molecules C1r and C1s), either by C1q's binding to antibodies from classes M and G, complexed with antigens, or by its binding C1q to the surface of the pathogen.

The complement system might play a role in many diseases with an immune component, such as Barraquer-Simons Syndrome, Alzheimer's disease, asthma, lupus erythematosus, various forms of arthritis, autoimmune heart disease and multiple sclerosis. Deficiencies in the terminal pathway predispose to both autoimmune disease and infections (particularly meningitis).

There are many tests for the determination of CIC, included the test of precipitation with PEG, radial immunodiffusion, and cellular tests like the test of Ray cell. Does not exist one

procedure to determinate all types of immunocomplex; in commerce exist some test to determinate fragments of the complex (e.g. C1q and C3d) that have an important diagnostic function.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

CIC C1q ELISA kit is based on the binding of C1q-linked immunocomplexes to C1q adsorbed on microplate. In the first step, the samples are added to the microplate adsorbed with C1q; during the following incubation, C1q-fixing circulating immune complexes (CIC) bind to the C1q immobilized on the microplate. The microplate is washed for remove the unbound serum proteins.

In the second step, the anti-human IgG conjugated with horseradish peroxidase (HRP) is added; it binds to the immunocomplex fixed on the microplate. The washing step removes the unbound conjugate.

In the third step, the TMB Substrate is added, and this reacts with the conjugate fixed on the microplate, developing a colorimetric reaction. The quantity of CIC IgG complex is proportional to the colour intensity read at 450 nm wavelengths.

The immunocomplex concentration in the sample is calculated through a calibration cuve. Heat aggregate human gamma globulin per mL ($\mu\text{Eq/mL}$) is the unit of measure of the results.

4. REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

4.1. Reagents and materials supplied in the kit

1. Calibrators (3 vials, 1.5 mL each)

ProClin >0.0015%

CAL0

CAL1

CAL2

REF DCE002/1606-0

REF DCE002/1607-0

REF DCE002/1608-0

2. Controls (2 vials, 1.5 mL each, ready to use)

74 mM Phosphate buffer, pH 7.4, BSA 0.5%, ProClin >0.0015%

Negative Control

Positive Control

REF DCE045/1601-0

REF DCE045/1602-0

3. Incubation Buffer (1 vial, 50 mL)

74 mM Phosphate buffer, pH 7.4. ProClin >0.0015%

REF DCE008-0

4. Conjugate (1 vial, 0.5 mL)

Anti human IgG conjugated with horseradish peroxidase (HRP). ProClin >0.0015%, BSA 0.1%

REF DCE002/1602-0

5. Conjugate Buffer (1 vial, 20 mL)

74 mM Phosphate buffer, pH 7.4. ProClin >0.0015%

REF DCE009-0

6. Coated Microplate (1 breakable microplate)

Microplate coated with C1q

REF DCE002/1603-0

7. TMB Substrate (1 vial, 15 mL)

H₂O₂-TMB 0.26 g/L (*avoid any skin contact*).

ProClin <0.0015%

REF DCE004-0

8. Stop Solution (1 vial, 15 mL)

Sulphuric acid 0.15 mol/L (*avoid any skin contact*)

REF DCE005-0

9. 10X Conc. Wash Solution (2 vials, 50 mL each)

0.2M Phosphate buffer, pH 7.4. ProClin >0.0015%

REF DCE054-0

4.2. Materials required but not provided

Distilled water

4.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser

Precision Pipetting Devices

Microplate reader (450 nm, 620-630 nm)

5. WARNINGS

- This kit is intended for *in vitro* use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
-  All human source material used in the preparation of the reagents have been tested and found negative for antibodies to HIV 1&2, HbsAg, and HCV. No test method however can offer complete assurance that HIV, HBV, HCV or other infectious agents are absent. Therefore, the Calibrators and the Controls should be handled in the same manner as potentially infectious material.
-  Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Some reagents (calibrators, controls, incubation buffer, conjugate, conjugate buffer and wash solution) contain small amounts of ProClin™ 300 (>0.0015%, <0.06%) as preservative. Avoid contact with skin or mucosa.
- Classification according to Regulation (EC) No. 1272/2008 [CLP]

Skin sensitivity, Category 1



Warning

Contains: ProClin 300

Hazard statements:

H317 - May cause an allergic skin reaction.

Precautionary statements:

P261 - Avoid breathing dust / fume / gas / mist / vapours / spray.

P280 - Wear protective gloves/ protective clothing / eye protection / face protection / hearing protection.

P321 - Specific treatment (see supplemental first aid instruction on this label).

P333+P313 - If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

P362+P364 - Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous, corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H₂O₂ to direct sunlight, metals or oxidants. Do not freeze the solution.

6. PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction For Use.
- All reagents should be stored refrigerated at 2 – 8°C in their original container. Any exceptions are clearly indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22 – 28°C) and mix well prior to use.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vials labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.
- If you use automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately validated for its intended use/purpose.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of the reagents.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic, icteric or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.

- **WARNING: the conjugate reagent is designed to ensure maximum dose sensitivity and may be contaminated by external agents if not used properly;** therefore, it is recommended to use disposable consumables (tips, bottles, trays, etc.). For divided doses, take the exact amount of conjugate needed and do not re-introduce any waste product into the original bottle. In addition, **for doses dispensed with the aid of automatic and semi-automatic devices,** before using the conjugate, it is advisable to clean the fluid handling system, ensuring that the procedures of washing, deproteinisation and decontamination are effective in avoiding contamination of the conjugate; **this procedure is highly recommended when the kit is processed using analysers which are not equipped with disposable tips.**
For this purpose, Diametra supplies a separate decontamination reagent for cleaning needles.
- Fresh disposable tips must be used when pipetting assay reagents including samples, calibrators and controls to mitigate the risk of carryover contamination. Failure to do so may lead to invalid results.

7. REAGENT STORAGE AND STABILITY

Store the kit at 2 – 8°C in the dark.

- The kit is stable at 2 – 8°C until the expiry date stated on the external kit label.
- Once opened, the kit is stable at 2 – 8°C for 6 months*.
- The diluted wash solution is stable for 30 days at 2 – 8°C.

* in use stability data supports reagent stability when used three times within this period.

Important note: open the bag containing the Coated Microplate only when it is at room temperature and close it immediately after use.

8. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

The assay should be performed using serum (standard sampling tubes or tubes containing serum separating gel) or plasma (lithium heparin, sodium heparin or potassium EDTA) samples.

Sample Storage	Duration
2 – 8 °C (serum & plasma)	24 hours
Freeze/thaw cycles (serum & plasma)	1 cycle
-20°C (serum & plasma)	6 months

9. PROCEDURE

9.1. Preparation of Calibrators and Controls

Before use, mix for 5 minutes with a rotating mixer.

The calibrators are ready for use and have the following concentration:

	C ₀	C ₁	C ₂
µgEq/mL	0	16	64

The controls are ready to use; the concentration is printed on the label.

9.2. Preparation of the Conjugate

Dilute the Conjugate (reagent 4) 1:100 with Conjugate buffer (reagent 5). The exact quantity is proportional to the number of the assays.

Mix well and avoid formation of foam. Stable for 3 hours at room temperature (22 – 28°C).

9.3. Preparation of the Wash Solution

Dilute the content of the vial “10X Conc. Wash Solution” with distilled water to a final volume of 500 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:10 dilution ratio.

It is possible to observe the presence of crystals within the concentrated wash solution; in this case mix at room temperature until the complete dissolution of crystals. For greater accuracy, dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500 mL, taking care also to transfer crystals completely by rinsing of the bottle, then mix until crystals are completely dissolved.

9.4. Preparation of Samples

The determination of C1q can be performed in human serum or samples.

All serum and plasma samples must be pre-diluted with incubation buffer (reagent 3):

Sample	10 µL
Incubation buffer (reagent 3)	500 µL

Mix gently; avoid using vortex.

9.5. Procedure

- **Allow all reagents to reach room temperature (22 – 28 °C) for at least 30 minutes.** At the end of the assay, immediately store the reagents at 2 – 8°C: avoiding long exposure to room temperature.
- Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2 – 8°C.
- To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
- As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the calibration curve (C₀-C₂), two for each Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Calibrator	Sample/ Control	Blank
Calibrator C ₀ -C ₂	100 µL		
Control		100 µL	
Diluted sample		100 µL	

Incubate 30 minutes at +37°C ±0.5°C.
Remove the contents from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution.

Important note: during each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel.

Automatic washer: if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.

Diluted conjugate	100 µL	100 µL	
-------------------	--------	--------	--

Incubate 30 minutes at +37°C ±0.5°C.
Remove the contents from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution.

Washing: follow the same indications of the previous point.

TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Incubate at 22 – 28°C for 15 minutes in the dark.

Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Shake gently the microplate.
Read the absorbance (E) at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against Blank within 5 minutes.

10. QUALITY CONTROL

Good Laboratory Practice (GLP) requires the use of quality control specimens in each series of assays in order to check the performance of the assay. Controls should be treated as unknown samples, and the results analysed with appropriate statistical methods.

The kit controls provided in the kit should be tested as unknowns and are intended to assist in assessing the validity of results obtained with each assay plate.

The mean concentration of each control level is documented in the QC report included with each kit. These mean concentration levels are determined over several assays which are run in duplicate in multiple locations across each plate.

DiaMetra recommends the users to maintain graphic records of the control values generated with each assay run, including the running means, SDs and %CVs. This information will facilitate the controls trending analysis relating to the performance of current and historical control lots relative to the supplied Quality Control data. The trending will assist in the identification of assays which give control values significantly different from their average range.

When interpreting control data, users should note that this product was designed and developed as a manual product. The range stated on the QC certificate should be appropriate for assays that are performed manually and with strict adherence to the Assay Procedure described above. It is recognised by Quality Control professionals, that as a result of differences in conditions and practices, there will always be variability in the mean values and precision of control measurements between different laboratories⁶.

11. CALCULATION OF RESULTS

A variety of data reduction software packages are available, which may be employed to generate the mean calibration curve and to calculate the mean concentrations of unknown samples and controls. A best fit curve, **including Calibrator 0 is required**. Other curve fitting algorithms are not recommended.

Alternatively, a calibration curve may be prepared on semi-log graph paper by plotting mean absorbance on the Y-axis against concentration of analyte on the X-axis. Calibrator 0 should be included in the calibration curve. Read the mean absorbance value of each unknown sample off the curve.

In order for the assay results to be considered valid the kit calibrators and control must fall within the specifications detailed in the lot specific certificate of analysis.

If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and samples must be retested.

12. MEASURING RANGE

The assay measuring range (AMR) is 3.9 – 36.2 µEq/mL. Any value that reads below 3.9 µEq/mL should be reported as “< 3.9 µEq/mL”. Any value that reads above 36.2 µEq/mL should be reported as “> 36.2 µEq/mL”.

13. UNCERTAINTY OF MEASUREMENT

The uncertainty associated with the measurement of the assay calibrators (C₀ – C₂) was determined following CLSI EP29-A “Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline”. The uncertainty for each calibrator level was assessed over a minimum of 5 days (1 run per day) by 3 different operators. Result from one representative lot:

Calibrator	Mean conc. (µgEq/mL)	Calibrator uncertainty Uc (µgEq/mL)
CAL0	< LoB	N/A
CAL1	16	2.0
CAL2	64	9.2

14. INTERPRETATION OF RESULTS

µgEq/mL of aggregates IgG	Interpretation
< 16	The sample should be considered negative
16 – 18	The sample should be graded equivocal and repeat testing / sampling should be performed according to internal practices
>18	The sample should be considered positive

The above index and interpretation should be considered as guidelines only; it is recommended that each laboratory establish its own index and interpretation based upon its own patient population.

15. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

15.1. Sensitivity and Specificity

The sensitivity and specificity were determined with guidance from CLSI EP24-A2 "Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves" using 103 negative and 8 positive samples run on a single reagent lot.

		DKO016		Total
		Positive	Negative	
Reference ELISA	Positive	7	1	8
	Negative	3	100	103
Total		10	101	111

Sensitivity: 88%

Specificity: 97%

15.2. Detection Capability

The limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ) were determined with guidance from CLSI EP17-A2, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation" using 6 blanks and 6 low level samples.

Sensitivity	Concentration
Limit of Blank (LoB)	0.4 µgEq/mL
Limit of Detection (LoD)	1.7 µgEq/mL
Limit of Quantitation (LoQ)	3.9 µgEq/mL

15.3. Trueness

Since no certified reference material is available, trueness has been demonstrated through assessment of sensitivity and specificity – refer to section 15.1.

15.4. Precision

Precision of the CIC C1q ELISA was determined by performing a complex precision study.

Repeatability: A total of 5 serum samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators.

Data from 1 representative lot is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (µgEq/mL)	Repeatability	
			SD	CV%
1	75	6.1	0.9	14%
2	75	11.2	1.5	13%
3	75	22.2	2.1	10%
4	75	31.5	2.4	8%
5	75	54.4	5.6	10%

Reproducibility: A total of 5 serum samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators.

Data from 1 representative lot is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (µgEq/mL)	Reproducibility	
			SD	CV%
1	75	6.1	1.1	18%
2	75	11.2	2.1	18%
3	75	22.2	3.3	15%
4	75	31.5	4.7	15%
5	75	54.4	6.7	12%

15.5. Linearity

Linearity was evaluated based on CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". A serial dilution of high and low serum samples was prepared.

For C1q concentration by CIC C1q ELISA, the measurement procedure shows linearity for the interval from 3.9 to 36.2 µgEq/mL within the allowable deviation of linearity (ADL) of ±15 %.

15.6. Interference

The following substances do not interfere with a bias of >15% in the CIC C1q ELISA when the concentrations are below the stated threshold presented in the following table.

Potentially Interfering Reagent	Threshold Concentration
Bilirubin, conjugated	15 mg/dL
Bilirubin, unconjugated	15 mg/dL
Haemoglobin	200 mg/dL
Total Protein	8.3 g/dL
Triglyceride	500 mg/dL

15.7. Serum-plasma study

The CIC C1q ELISA matrix comparison study was performed to evaluate the difference across tube types (serum separator tubes (SST), lithium heparin plasma, sodium heparin plasma and K2 EDTA plasma) versus the control samples (red top serum, without additive) following CLSI EP35-Ed1 "Assessment of Equivalence or Suitability of Specimen Types for Medical Laboratory Measurement Procedures". A total of 20 samples to cover the assay range were evaluated. Linear regression analysis was performed on the comparative data:

Sample type	Slope [95% CI]	Intercept (µgEq/mL) [95% CI]	Correlation coefficient (r)
SST	1.09 [0.99 - 1.18]	-0.5 [-1.74 - 0.78]	0.99
Lithium Heparin	1.07 [0.96 - 1.17]	-1.0 [-2.40 - 0.45]	0.98
Sodium Heparin	1.02 [0.88 - 1.17]	-0.4 [-2.37 - 1.64]	0.96
EDTA	1.09 [1.01 - 1.17]	-0.8 [-1.86 - 0.35]	0.99

16. LIMITATIONS OF USE

- As in the case of any diagnostic procedure, results must be interpreted in conjunction with the patient's clinical presentation and other information available to the physician.
- The performance characteristics of this assay have not been established in a paediatric population.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with *in vitro* immunoassays⁷. Patients routinely exposed to animals or to animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed.

17. WASTE MANAGEMENT

Reagents must be disposed of in accordance with local regulations.

All materials that have come into contact with samples and reagents must be disposed of in accordance with country, state and local regulations.

18. BIBLIOGRAPHY

1. Triolo G., et al J.Clin.Lab.Immunol 13, 35-39 (1984)
2. Rong-jia Xu et al J.Immunol.Met. 135, 225-231(1990)
3. Menzel J.E.,et al J.Immunol. Met. 138, 16 (1991)
4. Muso E, et al Nippon Jinzo Gakkai Shi.36(4):345-54 (1994)
5. Yoshinoya S,et al J Clin Lab Immunol. 38(4):161-73 (1992)
6. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
7. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33

19. REVISION IDENTIFIER

Additions or changes to the IFU are indicated by grey highlighting.

20. PRODUCT COMPLAINTS AND TECHNICAL SUPPORT

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with similar regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on IVD Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national regulatory authority.

The manufacturer can be contacted through their customer service or technical support team. The contact details can be found below and on the company website: www.diametra.com.

Ed. 09/2024

DCM016-15



DCM016-15

Ed. 09/2024

CIC C1q ELISA

para el análisis de rutina

Determinación inmunoenzimática directa de CIC C1q en suero o plasma humano

IVD

LOT

Ver etiqueta
externa2°C  8°C $\Sigma = 96$ pruebas

REF DKO016

1. FINALIDAD PREVISTA

Para uso en diagnóstico *in vitro*

Para uso profesional de laboratorio

El ensayo CIC C1q ELISA es un dispositivo manual de diagnóstico *in vitro* destinado a la determinación cuantitativa de la concentración de de CIC C1q en suero o plasma humano de poblaciones adultas y pediátricas.

2. IMPORTANCIA CLÍNICA

El sistema del complemento es una cascada bioquímica del sistema inmunitario involucrado en la eliminación de los agentes patógenos de un organismo. Se compone de muchas proteínas plasmáticas pequeñas que trabajan juntas para lisar la membrana plasmática de las células extrañas.

La activación de este sistema conduce a la citólisis, quimiotaxis, opsonización y a la inflamación, así como al marcado de los agentes patógenos de la fagocitosis. El sistema del complemento se compone de 35 proteínas solubles y proteínas que se unen a las células, 12 de las cuales están directamente involucradas en la vía del complemento. Estas proteínas representan el 5% de la fracción de la globulina del suero. Las proteínas del complemento se sintetizan principalmente por los hepatocitos; cantidades significativas son producidas por los monocitos, los macrófagos y las células epiteliales del tracto gastrointestinal y urogenital.

C1q está involucrado en la vía clásica del complemento. La vía clásica se desencadena por la activación del complejo C1 (que consiste en una molécula C1q y dos moléculas C1r y C1s); C1q une los anticuerpos IgM e IgG complejos con los antígenos o la superficie del agente patógeno.

El sistema del complemento desempeña un papel en muchas enfermedades con un componente inmunológico, como el Alzheimer, el síndrome de Barraquer Simons, el asma, el lupus, las diversas formas de artritis, las enfermedades autoinmunes del corazón y la esclerosis en placas. La ausencia de la vía terminal predispone a las enfermedades autoinmunes y a las infecciones (especialmente meningitis).

Se han desarrollado muchos ensayos para la determinación de los CIC, incluido el ensayo de precipitación con PEG, la inmunodifusión radial y ensayos celulares como el ensayo de células radiales. No existe ningún procedimiento capaz de determinar todos los tipos de inmunocomplejos; en el mercado existen métodos para determinar los fragmentos del complemento (por ejemplo, C1q y C3d) que tienen un valor diagnóstico importante.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El kit (CIC-C1q) se basa en el principio de que los inmunocomplejos afines a la fracción C1q son bloqueados por el C1q inmovilizado en la microplaca. En la primera fase del procedimiento, se añaden los sueros y las muestras a la microplaca recubierta con C1q y, a continuación, se dejan incubar. Durante esta fase, los inmunocomplejos afines a la fracción C1q se unen al C1q que recubre la microplaca. Con el lavado de la microplaca se retiran las proteínas del suero no unidas.

En la segunda fase, se añade el conjugado anti IgG humana-peroxidasa, que se une a los inmunocomplejos ahora fijados a la microplaca. Con el lavado se retira el conjugado no unido.

En la tercera fase, se añade el sustrato TMB, que reacciona con el conjugado unido a la microplaca. La intensidad del color medida a 450 nm es proporcional a los niveles de CIC IgG.

La concentración de inmunocomplejos presentes en la muestra se determina mediante una Curva de calibración. Los resultados se expresan como microgramos de gammaglobulina humana agregada por calor equivalentes por mL ($\mu\text{gEq/mL}$)

4. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

4.1. Reactivos y materiales incluidos en el kit

1. Calibradores (3 frascos, 1,5 mL cada uno)

ProClin >0,0015%

CAL0

CAL1

CAL2

REF DCE002/1606-0

REF DCE002/1607-0

REF DCE002/1608-0

2. Controles (2 frascos, 1,5 mL cada uno, listos para el uso)
Tampón fosfato 74 mM pH 7,4, BSA 0,5%, ProClin >0,0015%
Control negativo **REF DCE045/1601-0**
Control positivo **REF DCE045/1602-0**

3. Tampón de incubación (1 frasco, 50 mL)
Tampón fosfato 74 mM pH 7,4. ProClin >0,0015%
REF DCE008-0

4. Conjugado (1 frasco, 0.5 mL)
Conjugado anti IgG humana conjugado con peroxidasa de
rabano (HRP). ProClin >0,0015%, BSA 0,1%
REF DCE002/1602-0

5. Tampón de conjugado (1 frasco, 20 mL)
Tampón fosfato 74 mM pH 7,4. ProClin >0,0015%
REF DCE009-0

6. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible)
CIC C1q absorbido en la microplaca
REF DCE002/1603-0

7. Substrato TMB (1 frasco, 15 mL)
H₂O₂-TMB (0,26 g/L) (evitar el contacto con la piel).
ProClin <0,0015% **REF DCE004-0**

8. Solución de parada (1 frasco, 15 mL)
Ácido sulfúrico 0,15 mol/L (evitar el contacto con la piel)
REF DCE005-0

9. Solución de lavado conc. 10X (2 frascos, 50 mL cada
uno)
0.2M tampón fosfato, pH 7,4. ProClin >0,0015%
REF DCE054-0

4.2. Materiales necesarios pero no suministrados

Agua destilada

4.3. Materiales auxiliares e instrumentación

Dispensador automático
Dispositivos de pipetas de precisión
Lector de microplacas (450 nm, 620-630 nm)

5. ADVERTENCIAS

- Este kit está destinado al uso *in vitro* realizado exclusivamente por profesionales. No es para uso interno o externo en personas ni animales.
- Utilice el equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
- Siga las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) para manipular productos sanguíneos.
-  Todo el material de origen humano utilizado en la preparación de los reactivos ha sido sometido a pruebas que han dado resultado negativo para los anticuerpos contra el VIH-1 y VIH-2, el HbsAg y el VHC. Sin embargo, ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de ausencia de VIH, VHB, VHC u otros agentes infecciosos. Por lo tanto, los calibradores y los controles deben manejarse de la misma manera que el material potencialmente infeccioso.
-  El material de origen animal utilizado en la preparación del kit se ha obtenido de animales certificados como sanos y la proteína bovina se ha obtenido de países donde no hay infección de EEB, pero estos materiales deben manejarse como potencialmente infecciosos.

- Algunos reactivos (calibradores, controles, tampón de incubación, conjugado, tampón de conjugado y solución de lavado) contienen pequeñas cantidades de ProClin™ 300 (>0,0015%, <0,06%) como conservante. Evite el contacto con la piel o las mucosas.
- Clasificación según Reglamento (UE) n° 1272/2008 [CLP]

Sensibilización cutánea, categoría 1



Contiene: ProClin 300

Atención

Indicaciones de peligro:

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Consejos de prudencia:

- P261 - Evitar respirar el polvo / el humo / el gas / la niebla / los vapores / el aerosol.
- P280 - Llevar guantes / ropa de protección / equipo de protección para los ojos / la cara / los oídos.
- P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver instrucciones de primeros auxilios en esta etiqueta).
- P333+P313 - En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
- P362+P364 - Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
- La solución de detención consiste en una solución diluida de ácido sulfúrico. El ácido sulfúrico es venenoso, corrosivo y puede ser tóxico si se ingiere. Para evitar quemaduras químicas, evite el contacto con la piel y los ojos.
- Evite la exposición del reactivo TMB/H₂O₂ a la luz solar directa, a metales o a oxidantes. No congele la solución.

6. PRECAUCIONES

- Siga estrictamente la secuencia de pasos de pipeteado que se indica en este protocolo. Los datos de rendimiento representados en este documento se obtuvieron utilizando los reactivos específicos indicados en estas instrucciones de uso.
- Todos los reactivos deben conservarse refrigerados entre 2 y 8 °C en su envase original. Las excepciones se indican claramente.
- Deje que todos los componentes del kit y las muestras alcancen la temperatura ambiente (22-28 °C) y mezcle bien antes de usarlos.
- No intercambie componentes del kit procedentes de diferentes lotes. Debe respetarse la fecha de caducidad impresa en las etiquetas de la caja y de los viales. No utilice ningún componente del kit después de su fecha de caducidad.
- Si el usuario utiliza un equipo automatizado, tiene la responsabilidad de asegurarse de que el kit ha sido debidamente validado para su uso previsto.
- La eliminación incompleta o imprecisa del líquido de los pocillos podría alterar la precisión del ensayo y/o aumentar el fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en sistemas automáticos se recomienda aumentar el número de lavados.

- Es importante que el tiempo de reacción en cada pocillo se mantenga constante para obtener resultados reproducibles. El pipeteo de las muestras no debe prolongarse más de diez minutos para evitar errores en el ensayo. Si se necesitan más de 10 minutos, siga el mismo orden de dispensación. Si se utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta en cada placa.
- La adición de la solución de sustrato de TMB inicia una reacción cinética, que finaliza al añadir la solución de detención. Por lo tanto, el sustrato de TMB y la solución de detención deben añadirse en la misma secuencia para eliminar las posibles desviaciones temporales durante la reacción.
- Respete las directrices para realizar el control de calidad en los laboratorios médicos mediante el ensayo de controles y/o sueros combinados.
- Se requiere la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No se deben usar en el ensayo muestras contaminadas microbiológicamente, muy lipémicas, ictericas o hemolizadas.
- Los lectores de placas miden en vertical. No toque el fondo de los pocillos.
- **ADVERTENCIA: el reactivo conjugado está diseñado para garantizar la máxima sensibilidad de la dosis y puede contaminarse con agentes externos si no se utiliza correctamente;** por lo tanto, se recomienda utilizar consumibles desechables (puntas, frascos, bandejas, etc.). Para dosis divididas, tome la cantidad exacta de conjugado necesaria y no vuelva a introducir ningún producto de desecho en el frasco original. Además, **para las dosis dispensadas mediante dispositivos automáticos y semiautomáticos,** antes de utilizar el conjugado, es aconsejable limpiar el sistema de manipulación de fluidos, asegurándose de que los procedimientos de lavado, desproteinización y descontaminación sean eficaces para evitar la contaminación del conjugado; **este procedimiento es muy recomendable cuando el kit se procesa con analizadores que no están equipados con puntas desechables.** Para ello, DiaMetra proporciona un reactivo de descontaminación independiente para la limpieza de las agujas.
- Deben emplearse puntas desechables nuevas al pipetear reactivos de ensayo, incluidas las muestras, los calibradores y los controles, para mitigar el riesgo de contaminación por arrastre. De lo contrario, los resultados podrían no ser válidos.

7. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Almacene el kit a 2-8 °C en un lugar oscuro.

- El kit es estable a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta externa.
- Una vez abierto, el kit es estable a 2-8 °C durante 6 meses*.
- La solución de lavado diluida es estable durante 30 días a 2-8 °C.

* Los datos de estabilidad en uso confirman la estabilidad del reactivo cuando se utiliza dos veces dentro de este período.

Nota importante: abra la bolsa que contiene la microplaca recubierta solo cuando esté a temperatura ambiente y ciérrela inmediatamente después de su uso.

8. RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El ensayo debe realizarse usando muestras de suero (tubos de muestras estándar o tubos que contienen gel de separación de suero) o plasma (heparina de litio, heparina de sodio o EDTA de potasio).

Almacenamiento de muestras	Duración
2 – 8 °C (suero & plasma)	24 horas
Ciclos de congelación/descongelación (suero & plasma)	1 ciclo
-20 °C (suero & plasma)	6 meses

9. PROCEDIMIENTO

9.1. Preparación de calibradores y controles

Antes de utilizar, mezclar suavemente durante 5 minutos con un mezclador de rodillos.

Los calibradores están listos para utilizarse y tienen las siguientes concentraciones:

	C ₀	C ₁	C ₂
µgEq/mL	0	16	64

Los controles están listos para su uso; la concentración del control está impresa en la etiqueta.

9.2. Preparación del conjugado

Diluir el conjugado (reactivo 4) 1/100 con el tampón de conjugado (reactivo 5).

La cantidad varía proporcionalmente según el número de ensayos que se vayan a realizar. Mezclar bien evitando la formación de espuma. Estable durante 3 horas a temperatura ambiente (22 – 28 °C).

9.3. Preparación de la solución de lavado

Diluir el contenido del vial «10X Conc. Wash Solution» con agua destilada hasta un volumen final de 500 mL antes de usarlo. Para volúmenes más pequeños, respete la relación de dilución de 1:10.

Es posible que observe la presencia de cristales dentro de la solución de lavado concentrada; en este caso, mezcle a temperatura ambiente hasta la completa disolución de los cristales. Para una mayor precisión, diluya todo el frasco de solución de lavado concentrada a 500 mL, teniendo cuidado también de transferir los cristales enjuagando completamente el frasco y luego mezclando hasta que los cristales se disuelvan completamente.

9.4. Preparación de las muestras

La determinación de C1q se puede realizar en suero o muestras humanas.

Todas las muestras de suero o plasma deben diluirse previamente con Tampón de incubación:

Suero	10 µL
Tampón de incubación (reactivo 3)	500 µL

Mezclar con cuidado. Evitar el uso del vórtex.

9.5. Procedimiento

- **Deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (22-28 °C) durante al menos 30 minutos.** Al finalizar el ensayo, almacene inmediatamente los reactivos a 2-8 °C: evite la exposición prolongada a la temperatura ambiente.
- Las tiras de micropocillos recubiertas no utilizadas deben dejarse de forma segura en el envoltorio de papel de aluminio que contiene desecante y almacenarse a 2- 8 °C.
- Para evitar que se produzca una posible contaminación microbiana y/o química, los reactivos no utilizados nunca se deberán transferir a los viales originales.
- Como es necesario realizar la determinación por duplicado para mejorar la precisión de los resultados de la prueba, prepare dos pocillos para cada punto de la curva de calibración (C₀-C₂), dos para el control, dos para cada muestra y uno para el blanco.

Reactivo	Calibrador	Muestra/ Controles	Blanco
Calibrador C ₀ -C ₂	100 µL		
Controles		100 µL	
Muestra diluida		100 µL	
Incubar 30 minutos a 37 °C ±0,5°C. Retire el contenido de cada pocillo, lave los pocillos 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida. Nota importante: en cada paso de lavado, agite ligeramente la placa durante 5 segundos y elimine el exceso de solución golpeando la placa invertida sobre un paño de papel absorbente. Lavadora automática: si utiliza un equipo automático, lave los pocillos al menos 5 veces.			
Conjugado	100 µL	100 µL	
Incubar 30 minutos a 37 °C ±0,5°C. Retire el contenido de cada pocillo, lave los pocillos 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida. Lavado: siga las mismas indicaciones del punto anterior.			
Sustrato de TMB	100 µL	100 µL	100 µL

Incube durante 15 minutos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (22-28 °C).

Solución de detención	100 µL	100 µL	100 µL
--------------------------	--------	--------	--------

Agite suavemente la microplaca.
Compare la absorbancia (E) a 450 nm con la obtenida con una longitud de onda de referencia de 620-630 nm o con el blanco en un plazo de 5 minutos.

10. CONTROL DE CALIDAD

Las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) requieren el uso de muestras de control de calidad en cada serie de ensayos para comprobar el rendimiento del ensayo. Los controles deberán tratarse como muestras desconocidas y los resultados deberán analizarse con métodos estadísticos adecuados.

Los controles incluidos en el kit deberán ser probados como desconocidos y están destinados a ayudar a evaluar la validez de los resultados obtenidos con cada placa de ensayo.

La concentración media de cada nivel de control se documenta en el informe de control de calidad que se incluye en cada kit. Los niveles de concentración media se determinan respecto de varios análisis, los cuales se realizan por duplicado en varios puntos diferentes de cada placa.

DiaMetra recomienda que los usuarios mantengan registros gráficos de los valores de control que se generan con cada ensayo, incluida la media de ejecución, la DE (desviación estándar) y el % CV. Esta información facilitará los ensayos de tendencia de los controles relacionados con el rendimiento de lotes de control actuales e históricos relativos a los datos de control de calidad proporcionados. La tendencia facilitará la identificación de los análisis que generan valores de control significativamente distintos de su intervalo medio.

Al interpretar los datos de control, los usuarios deberán tener en cuenta que este producto fue diseñado y desarrollado como un producto manual. El rango establecido en el certificado de control de calidad deberá ser adecuado para los ensayos que se realizan manualmente y en estricto cumplimiento del procedimiento de ensayo anteriormente descrito. Los profesionales del control de calidad reconocen que, como resultado de las diferencias en las condiciones y en las prácticas, siempre habrá variaciones entre laboratorios en los valores medios y en la precisión de las mediciones de control⁶.

11. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Hay disponibles diversos paquetes de software de reducción de datos que se pueden utilizar para generar el promedio de la curva de calibración y para calcular el promedio de las concentraciones de muestras y controles desconocidos. Es necesario un ajuste de curva óptimo para los puntos de calibración, **incluido el calibrador 0**. No se recomiendan otros algoritmos de ajuste de curva.

También se puede preparar una curva de calibración en papel semilogarítmico mediante el trazado de la

absorbancia media en el eje Y frente a la concentración de analitos en el eje X. El calibrador 0 debe incluirse en la curva de calibración. Lea el valor de absorbancia medio de cada muestra desconocida que se encuentra fuera de la curva.

Para que los resultados del ensayo se consideren válidos, los calibradores y el control del kit deben ajustarse a las especificaciones detalladas en el certificado de análisis específico del lote.

Si un control está fuera de su rango especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y se deben volver a realizar pruebas de las muestras.

12. RANGO DE MEDICIÓN

El rango de medición del ensayo (AMR) es de 3,9 – 36,2 µgEq/mL.

Cualquier valor que sea inferior a 3,9 µgEq/mL debe informarse como “<3,9 µgEq/mL”. Cualquier valor que sea superior a 36,2 µgEq/mL debe informarse como “>36,2 µgEq/mL”.

13. INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN

La incertidumbre asociada a la medición de los calibradores del ensayo (C₀ – C₂) se determinó siguiendo CLSI EP29-A “Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline”. 3 operadores diferentes evaluaron la incertidumbre para cada nivel del calibrador durante un mínimo de 5 días (1 análisis por día). Resultado de un lote representativo:

Calibrador	Conc. media (µgEq/mL)	Incerti-dumbre del calibrador U _c (µgEq/mL)
CAL0	< LoB	N/A
CAL1	16	2,0
CAL2	64	9,2

14. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Concentración (AU/mL)	Interpretación
<16	La muestra debe considerarse negativa.
16 – 18	La muestra debe ser calificada como equívoca y la repetición de la prueba/muestreo debe realizarse de acuerdo con las prácticas internas.
>18	La muestra debe considerarse positiva.

Los rangos anteriores deberán ser considerados como directrices solamente; se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango previsto en función de su propia población de pacientes.

15. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se muestran los datos de rendimiento representativos. Los resultados obtenidos en diferentes laboratorios pueden diferir.

15.1. Sensibilidad y especificidad

La sensibilidad y la especificidad se determinaron con orientación del documento CLSI EP-24 “Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves”, usando 103 muestras negativas y 8 positivas realizadas en dos lotes de reactivos.

		DKO016		Total
		Positivo	Negativo	
Referencia ELISA	Positivo	7	1	8
	Negativo	3	100	103
Total		10	101	111

Sensibilidad: 88 %

Especificidad: 97 %

15.2. Capacidad de detección

El límite de blanco (LoB), el límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LoQ) se determinaron con orientación del documento CLSI EP17-A, “Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation”, usando 6 blancos y 6 muestras de bajo nivel.

Sensibilidad	Concentración
Límite de blanco (LoB)	0,4 µgEq/mL
Límite de detección (LoD)	1,7 µgEq/mL
Límite de cuantificación (LoQ)	3,9 µgEq/mL

15.3. Veracidad

Dado que no se dispone de material de referencia certificado, la veracidad se gestiona a través de la evaluación de la sensibilidad y la especificidad; consulte la sección 15.1.

15.4. Precisión

La precisión de CIC C1q ELISA se determinó mediante la realización de un estudio de precisión complejo.

Repetibilidad: Se analizaron un total de 5 muestras en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores. A continuación se muestran los datos de un lote representativo:

Muestra	n	Concentración media (µgEq/mL)	Repetibilidad	
			DE	CV %
1	75	6,1	0,9	14%
2	75	11,2	1,5	13%
3	75	22,2	2,1	10%
4	75	31,5	2,4	8%
5	75	54,4	5,6	10%

Reproducibilidad: Se analizaron un total de 5 muestras de suero en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores. A continuación se muestran los resultados de los datos combinados de un lote:

Muestra	n	Concentración media (µgEq/mL)	Reproducibilidad	
			DE	CV %
1	75	6,1	1,1	18%
2	75	11,2	2,1	18%
3	75	22,2	3,3	15%
4	75	31,5	4,7	15%
5	75	54,4	6,7	12%

15.5. Linealidad

La linealidad se evaluó en base a "CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Para la concentración de C1q mediante el ensayo CIC C1q ELISA, el procedimiento de medición muestra linealidad para el intervalo de 3.9 to 36.2 µgEq/mL dentro de la desviación de linealidad permitida (ADL) de $\pm 15\%$.

15.6. Interferencias

Las siguientes sustancias no interfieren con un sesgo de $> \pm 15\%$ en el ensayo CIC C1q ELISA cuando las concentraciones están por debajo del umbral indicado presentado en la siguiente tabla.

Reactivos que pueden interferir	Límite máximo de concentración
Bilirrubina, conjugada	15 mg/dL
Bilirrubina, no conjugada	15 mg/dL
Hemoglobina	200 mg/dL
Proteína total	8,3 g/dL
Triglicéridos	500 mg/dL

15.7. Estudio en suero-plasma

El estudio de comparación de la matriz del ensayo CIC C1q ELISA se realizó para evaluar la diferencia entre los tipos de tubos (tubos separadores de suero [SST], plasma de heparina de litio, plasma de heparina sódica y plasma K2 EDTA) frente a las muestras de control (tapón rojo para suero, sin aditivos) siguiendo las directrices CLSI EP9-A3. Se evaluó un total de 20 muestras para cubrir el rango del ensayo. Se realizó un análisis de regresión lineal sobre los datos comparativos:

Tipo de muestra	Pendiente [IC del 95 %]	Intersección (µgEq/mL) [IC del 95 %]	Coefficiente de correlación (r)
SST	1,09 [0,99 - 1,18]	-0,5 [-1,74 - 0,78]	0,99
Heparina de litio	1,07 [0,96 - 1,17]	-1,0 [-2,40 - 0,45]	0,98
Heparina sódica	1,02 [0,88 - 1,17]	-0,4 [-2,37 - 1,64]	0,96
EDTA	1,09 [1,01 - 1,17]	-0,8 [-1,86 - 0,35]	0,99

16. LÍMITES DE USO

- Como en cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados se deberán interpretar junto con los hallazgos clínicos del paciente y otra información de la que el médico disponga.
- Las características de rendimiento de este análisis no se han establecido para una población pediátrica.
- Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden presentar reacciones con las inmunoglobulinas reactivas, que interfieren con los inmunoensayos *in vitro*⁷. Los pacientes que se exponen habitualmente a animales o a productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y puede que se observen valores anómalos.

17. GESTIÓN DE RESIDUOS

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa local.

Todos los materiales que hayan entrado en contacto con las muestras y los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa nacional, estatal y local.

18. BIBLIOGRAFÍA

1. Triolo G., et al J.Clin.Lab.Immunol 13, 35-39 (1984)
2. Rong-jia Xu et al J.Immunol.Met. 135, 225-231(1990)
3. Menzel J.E.,et al J.Immunol. Met. 138, 16 (1991)
4. Muso E, et al Nippon Jinzo Gakkai Shi.36(4):345-54 (1994)
5. Yoshinoya S,et al J Clin Lab Immunol. 38(4):161-73 (1992)
6. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
7. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

19. IDENTIFICADOR DE REVISIÓN

Las adiciones o cambios en las instrucciones de uso se han resaltado en gris.

20. RECLAMACIONES SOBRE PRODUCTOS Y ASISTENCIA TÉCNICA

Para un paciente/usuario/tercero en la Unión Europea y en países con un régimen regulatorio similar: Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro; si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se ha producido un incidente grave, informe del mismo al fabricante y/o a su representante autorizado y al organismo regulador nacional.

Puede contactar con el fabricante a través del servicio de atención al cliente o del equipo de asistencia técnica. Los datos de contacto se encuentran a continuación y en el sitio web de la empresa: www.diametra.com.

Ed. 09/2024

DCM016-15

DiaMetra	Packaging Information Sheet	Mod. PIS000-2
-----------------	------------------------------------	----------------------

	DE <i>In vitro</i> Diagnostikum ES Producto sanitario para diagnóstico <i>In vitro</i> FR Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> EN <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device IT Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> PT Dispositivos medicos de diagnostico <i>in vitro</i>		DE Hergestellt von ES Elaborado por FR Fabriqué par EN Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
	DE Achtung, Begleitdokumente ES Precaución, consulte los documentos adjuntos FR Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement EN Caution, consult accompanying documents IT Attenzione, consultare la documentazione allegata PT Atenção, consultar os documentos de acompanhamento	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricacion FR Date de fabrication EN Date of manufacture IT Data di produzione PT Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE Verwendbar bis ES Estable hasta (usar antes de último día del mes) FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) EN Use by (last day of the month) IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) PT Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE Biogefährdung ES Riesco biológico FR Risque biologique EN Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
	DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consultar las instrucciones FR Consulter le mode d'emploi EN Consult instructions for use IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso		DE Chargenbezeichnung ES Código de lote FR Numero de lot EN Batch code IT Codice del lotto PT Código do lote
 $\Sigma = xx$	DE Ausreichend für "n" Tests ES Contenido suficiente para "n" tests FR Contenu suffisant pour "n" tests EN Contains sufficient for "n" tests IT Contenuto sufficiente per "n" saggi PT Contém o suficiente para "n" testes		DE Inhalt ES Contenido del estuche FR Contenu du coffret EN Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Limitación de temperatura FR Limites de température de conservation EN Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Références du catalogue EN Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo
	DE Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen ES Mantener alejado de la luz solar FR Tenir à l'écart de la lumière du soleil EN Keep away from sunlight IT Tenere lontano dalla luce solare PT Mantenha longe da luz solar		