

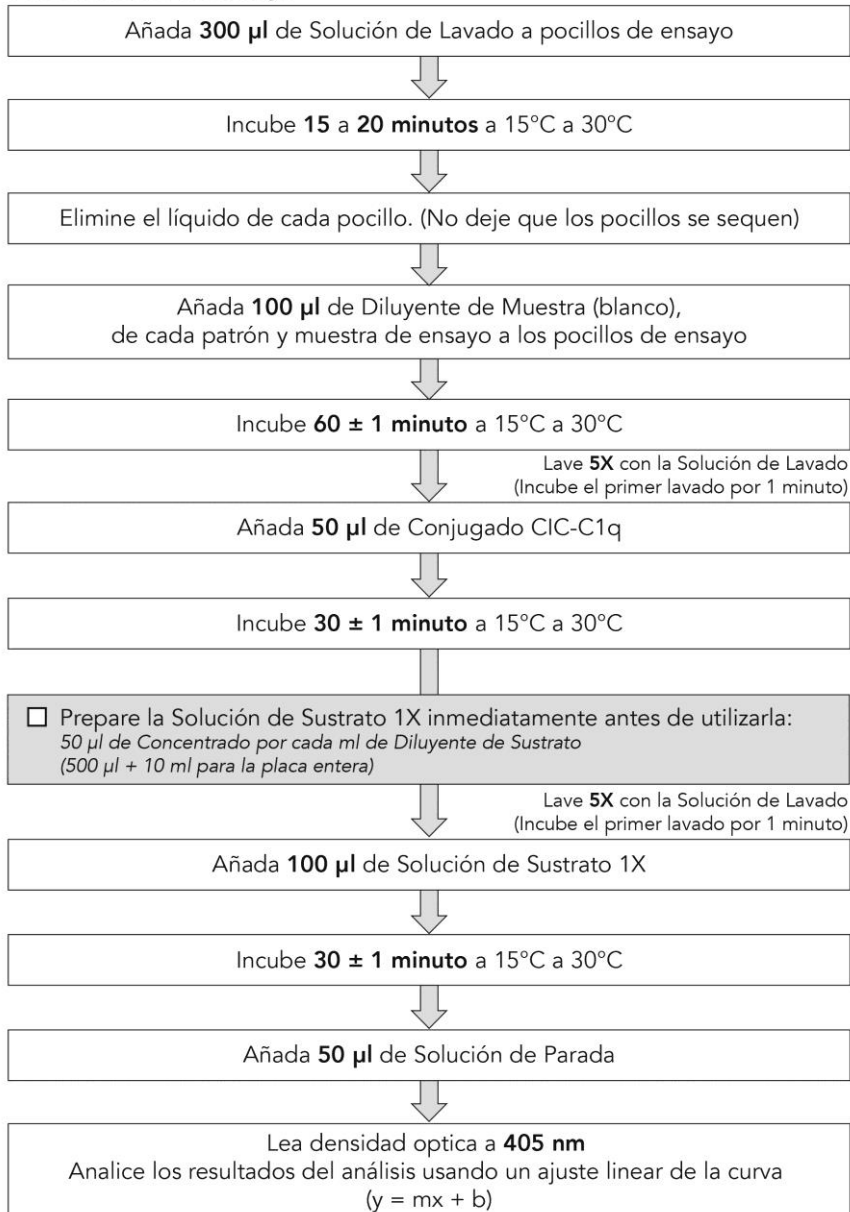
Para la detección de complejos inmunes en el suero o plasma humanos

RESUMEN

Preparación del Reactivo, Control y de la Muestra

- Diluya el Concentrado de Solución de Lavado 1:20 con agua desionizada.
- Reconstituya cada Patrón con 2,0 ml del Reactivo Hidratante, mezcle bien y déjelo por 15 minutos. (Son estables durante 30 días.)
- Diluya las Muestras 1:50 con Diluyente de Muestras de Complemento (10 μ l + 490 μ l).

Procedimiento del ensayo





USO PREVISTO

El ensayo de inmunoenzimático de CIC-C1q de MicroVue está diseñado para la detección de complejos inmunes en suero o plasma humanos.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La importancia de los complejos inmunes circulantes (CIC) y su relación con diferentes enfermedades es objeto de investigación desde hace varios años. La formación de complejos inmunes es un proceso de protección continuo y, por lo general, benigno de un sistema inmune normal. Los CIC son eliminados de su huésped mediante una serie de procesos bioquímicos, enzimáticos y celulares complejos. La activación de la vía clásica del complemento es fundamental para la eliminación de muchos CIC.

No obstante, en ciertas condiciones de enfermedad que aún no se comprenden muy bien, los complejos inmunes pueden producir lesiones dependientes del complemento en diferentes órganos y tejidos. Esta activación del complemento puede comenzar como una serie de episodios potencialmente destructivos en el huésped, incluyendo la producción de anafilatoxina, lisis celular, estimulación leucocitaria y activación de macrófagos y otras células.¹ Cuando los complejos inmunes se fijan a las paredes de los vasos o a las membranas celulares, puede producirse la destrucción de tejido normal, como ocurre en algunos casos de glomerulonefritis.

Ciertas propiedades de los CIC influyen en su patogenicidad potencial. Las más importantes son: (1) la naturaleza, tamaño y concentración del antígeno; (2) la naturaleza, tamaño y concentración del anticuerpo; y (3) la velocidad de formación y eliminación de los complejos inmunes.^{1,2}

Los complejos inmunes circulantes se han medido en diferentes condiciones: por ejemplo, infecciones, trastornos autoinmunes, traumatismos y enfermedades proliferativas neoplásicas. Los estudios actuales sugieren que la determinación de los CIC puede ser importante para la evaluación de ciertas enfermedades y, algunas veces, para realizar un seguimiento de la eficiencia de la terapia, como ocurre particularmente con el lupus eritematoso sistémico (LES) y algunas formas de la artritis reumatoide (AR).^{3,4} La primera enfermedad vinculada a la formación de complejos inmunes fue la enfermedad de suero, descrita a comienzos del siglo XX por von Pirquet. Desde entonces, se han descrito niveles elevados de CIC en enfermedades autoinmunes (LES, síndrome relacionado con el LES, AR), glomerulonefritis, enfermedad neoplásica (Hodgkin, leucemia), infecciones bacterianas (endocarditis bacteriana subaguda, lepra), infecciones parasitarias (malaria, esquistosomiasis) e infecciones virales (hepatitis, mononucleosis).

Se han descrito más de 40 técnicas de ensayo para la detección o cuantificación de los CIC, como el ensayo de células Raji, la prueba de desviación del C1q, el ensayo de congulinina, los procedimientos de unión del C1q en fase fluida, el ensayo del factor reumatoide, la prueba de PEG precipitina y ensayos del C1q en fase sólida.^{1,5} Debido a que el tamaño y las propiedades fisicoquímicas de los CIC varían de forma considerable, ninguno de estos ensayos se ha establecido como norma. Un estudio en colaboración patrocinado por la Organización Mundial de la Salud en 1978 determinó que no había un solo método adecuado para todos los estados de enfermedad sospechados y recomendaba utilizar al menos dos técnicas de ensayo diferentes para detectar y medir los CIC de forma adecuada.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo de inmunoenzimático de CIC-C1q de MicroVue se basa en el principio de que los CIC se unen a la proteína purificada C1q humana inmovilizada.

En la primera etapa, se añaden los patrones y muestras de suero o plasma diluidos en diluyente de muestras de complemento a los pocillos de microtitulación recubiertos con C1q y se los incuban. Durante el período de incubación, los complejos inmunes que se unen al C1q formarán un complejo con los pocillos de microensayo recubiertos con C1q. Para confirmar un resultado CIC positivo, la muestra puede diluirse en

diluyente de confirmación, el cual contiene una concentración de sal lo suficientemente alta para inhibir la unión de los CIC al C1q,^{6,7} para después añadirla a los pocillos de microtitulación e incubarla. Un ciclo de lavado elimina las proteínas de suero no unidas.

En la segunda etapa, se añade IgG antihumana de cabra conjugada con peroxidasa de rábano a cada pocillo de ensayo. Durante la incubación, el conjugado se une a los complejos inmunes que ahora se encuentran unidos a los pocillos de microensayo recubiertos con C1q. Un ciclo de lavado elimina el conjugado no unido.

En la tercera etapa, se añade un sustrato enzimático a cada pocillo de ensayo. El anticuerpo conjugado con peroxidasa de rábano unido reacciona con el sustrato cromogénico y forma un color verde. Después de la incubación, se añade un reactivo para detener la coloración.

Se miden las absorbancias del patrón y de las muestras de ensayo (valores A_{405}) mediante espectrofotometría. La intensidad del color verde que se forma es proporcional a la cantidad de anticuerpos IgG CIC que se unen al C1q en fase sólida. Se genera una curva estándar representando gráficamente los valores A_{405} obtenidos para cada patrón en función de su concentración. La concentración de complejos inmunes presentes en la muestra de ensayo se determina por referencia a la curva estándar. Los resultados se expresan como microgramos de gammaglobulina humana agregada por calor equivalentes por mL ($\mu\text{g Eq/mL}$).

REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS

El kit de enzimoimmunoensayo de CIC-C1q contiene lo siguiente:

A	Patrones CIC-C1q	Cód. A9503-A9505	2 mL, 2 unidades
B	(liofilizados) Una vez reconstituidos, cada uno contiene una cantidad conocida de gammaglobulina humana agregada por calor, en PBS, estabilizadores al 2,5%		
C	humana agregada por calor, en PBS, estabilizadores al 2,5%		
1	Placa de microensayo	Cód. A9500	12 unidades
	96 pocillos con retén y soporte consistente en tiras de ocho pocillos recubiertas con proteína C1q humana purificada en una bolsa de papel de aluminio resellable		
2	Solución de parada	Cód. A3673	6 mL
	Contiene 250 mM de ácido oxálico		
3	Concentrado de solución de lavado 20X	Cód. A9957	50 mL, 2 unidades
	Cada uno contiene solución salina tamponada de fosfato (PBS), Tween-20® al 1,0% y ProClin® 300 al 0,035%		
4	Diluyente de muestras de complemento	Cód. A3670	50 mL
	Contiene PBS, estabilizadores al 2,5%, ProClin 300 al 0,035%		
5	Diluyente de sustrato	Cód. A3672	25 mL
	Contiene 0,1 M de tampón de citrato y H ₂ O ₂ al 0,05%		
6	Concentrado de sustrato	Cód. A3671	1,5 mL
	Contiene ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) al 0,7%, sal de diamonio		
7	Concentrado de CIC-C1q	Cód. A9506	3 mL, 2 unidades
	Contiene IgG antihumana (de cabra) conjugada con peroxidasa suspendida en un tampón estabilizador de peroxidasa de rábano		
8	Reactivo hidratante	Cód. A3675	25 mL
	Contiene ProClin 300 al 0,035%		
9	Diluyente de confirmación	Cód. A9511	10 mL, 2 unidades
	Contiene PBS, estabilizadores al 2,5%, 1,2M NaCl, ProClin 300 al 0,035%		

Tween® 20 es una marca registrada de ICI Americas Inc.

ProClin® es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Cronómetro (de 60 minutos)
- Calculadora u otro método de cálculo para validar el ensayo
- Placas de microensayo limpias y sin usar y/o tubos de ensayo y portatubos
- Recipiente para dilución del tampón de lavado
- Botella para lavado u otro sistema de lavado para inmunoensayo
- Pipeta multicanal ajustable (8 o 12 canales) o micropipetas de repetición (opcionales)
- Pipetas limpias, 1 mL, 5 mL y 10 mL
- Micropipetas y puntas de pipeta
- Lector de placas apto para leer valores A_{405} de densidad óptica de 0,0 a 2,0
- Agua desionizada o destilada

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso Diagnóstico *in vitro*.
- Trate las muestras como material potencialmente biopeligroso. Respete las precauciones universales al manipular el contenido de este kit y las muestras de los pacientes.
- Deseche los recipientes y el contenido no utilizado de acuerdo con la normativa internacional, nacional y local.
- Use los reactivos suministrados como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Use ropa protectora adecuada, guantes y protección ocular/facial al manipular el contenido de este kit.
- Guarde los reactivos de ensayo según lo indicado.
- No emplee las tiras recubiertas si la bolsa está pinchada.
- Analice cada muestra por duplicado.
- El ProClin 300 se utiliza como conservante. El contacto o la ingestión accidentales de tampones o reactivos que contienen ProClin pueden provocar irritación en la piel, los ojos o la boca. Utilice buenas prácticas de laboratorio para reducir la exposición. Busque atención médica en caso de experimentar estos síntomas.
- Se recomienda utilizar pipetas multicanal o pipeteros de repetición para garantizar la administración de los reactivos en el momento adecuado.
- Para una medición exacta de las muestras, añada las muestras y los patrones con precisión. Pipetee cuidadosamente utilizando sólo equipo calibrado.
- Es fundamental recoger y almacenar de forma adecuada las muestras de ensayo para obtener resultados precisos.
- Evite la contaminación microbiana o cruzada de las muestras, reactivos o materiales. Su contaminación puede llevar a la obtención de resultados incorrectos.
- No utilice un pocillo de microensayo para más de un ensayo.
- Descontamine todas las muestras, reactivos y materiales dejándolos en remojo durante 30 minutos como mínimo en una solución 1:10 de lejía de uso doméstico (hipoclorito sódico) o procéselos en el autoclave a 121°C durante 30 minutos a una presión de 15 psi.
- El uso de tiempos y temperaturas de incubación que no sean los indicados en la sección Procedimiento de ensayo puede dar resultados erróneos.
- El concentrado de sustrato es sensible a la luz. Evite la exposición prolongada a la luz fuerte o directa. Guarde los reactivos en un lugar oscuro cuando no los utilice.
- No permita que los pocillos de microensayo se sequen una vez iniciado el ensayo.
- Al añadir o aspirar líquidos de los pocillos de microensayo, no raspe ni toque el fondo de los pocillos.
- Las muestras inactivadas por calor, hiperlipémicas o contaminadas pueden dar resultados erróneos.
- Para evitar la formación de aerosoles durante el lavado, utilice un aparato para aspirar el líquido de lavado al interior de un frasco que contenga lejía de uso doméstico.
- Este ensayo puede realizarse con cualquier método de lavado homologado.
- Lavarse bien las manos después de manipular el kit.

- Para obtener información adicional sobre símbolos de peligro, seguridad, manipulación y eliminación de los componentes de este kit, consulte la Ficha de datos de seguridad (*Safety Data Sheet, SDS*) que se encuentra en quidel.com.

ALMACENAMIENTO

Almacenar el kit sin abrir a 2°C a 8°C. Una vez que el kit esté abierto, es necesario mantener el concentrado de solución de lavado 20X y el reactivo hidratante a una temperatura de entre 2°C y 30°C.

Una vez que haya seleccionado los reactivos o materiales que utilizará en el ensayo, vuelva a guardar inmediatamente los reactivos sin usar, respetando sus temperaturas de conservación correspondientes. Los reactivos y materiales deben llevarse a temperatura ambiente (15°C a 30°C) antes de su uso.

INDICACIONES DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

El color del concentrado de sustrato puede variar entre verde claro y verde oscuro. Esta condición no influirá en su funcionamiento normal. No obstante, la solución de sustrato recién preparada debe ser incolora o de un color verde claro. Un color verde oscuro indica que la solución de sustrato preparada se ha deteriorado. En este caso, debe desecharse y prepararse solución de sustrato fresca en un recipiente de vidrio limpio.

Si la solución de lavado diluida se vuelve turbia o se decolora significa que el reactivo se ha echado a perder y debe desecharse.

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Manipule y deseche todas las muestras utilizando las precauciones universales.

El ensayo requiere al menos 10 µL de suero o plasma EDTA. Todas las muestras deben recogerse utilizando técnicas asépticas y prepararse según las técnicas habituales para el análisis clínico en laboratorio.⁹ No inactive por calor las muestras. Deben eliminarse de las muestras todas las partículas de materia mediante centrifugado a baja velocidad antes de realizar el ensayo.

Las muestras pueden guardarse a 2°C a 8°C hasta 7 días. Para conservarlas por períodos más prolongados, deben congelarse a -20°C o menos, en un congelador sin dispositivo antiestática.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Vea en la Tabla 1 las cantidades de solución de sustrato y tiras de microensayo requeridas por número de ensayos. Tras retirar los reactivos y materiales necesarios, vuelva a guardar los elementos no utilizados a la temperatura correspondiente indicada (vea la sección *ALMACENAMIENTO*).

Deje que todos los reactivos y materiales para el ensayo se estabilicen a temperatura ambiente (15°C a 30°C) antes de su uso.

1. Solución de lavado

Mezcle el concentrado de solución de lavado 20X invirtiendo el frasco varias veces. Si el concentrado de solución de lavado 20X se ha guardado a una temperatura de 2°C a 8°C, es posible que se hayan formado cristales. Para disolver los cristales, caliente el frasco en un baño de agua a 37°C a 50°C hasta que todos los cristales se hayan disuelto. Mezcle bien. Prepare la solución de lavado para lavar los pocillos de microensayo diluyendo todo el contenido de uno de los frascos de concentrado de solución de lavado 20X, hasta un litro, con agua destilada o desionizada. Mezcle bien. La solución de lavado es estable durante 30 días si se conserva en un recipiente limpio a 2°C a 8°C. En caso de decoloración o turbiedad, deseche el reactivo.

2. Selección de las tiras de microensayo

Retire el retén de las tiras de la placa montada. Determine el número de tiras requeridas para el ensayo consultando la Tabla 1. Retire las tiras que no necesita y colóquelas en la bolsa de conservación. Vuelva a sellar la bolsa y guárdela a 2°C a 8°C. Fije las tiras que utilizará en el ensayo volviendo a colocar el retén bien firme en su lugar en la placa de microensayo.

3. Reconstitución del patrón CIC-C1q

Añada 2,0 mL de reactivo hidratante a los viales de patrón, A-C. Deje que los patrones liofilizados se rehidraten durante 15 minutos como mínimo y, a continuación, mézclelos bien. Evite la formación de espuma o burbujas al mezclar. Los patrones reconstituidos son estables durante 30 días cuando se los conserva a 2°C a 8°C.

4. Dilución de muestras

Atención: trate todas las muestras como si fueran potencialmente infecciosas. No utilice muestras inactivadas por calor o contaminadas. Determine el número (N) de muestras que someterá a ensayo. Identifique los tubos de ensayo con etiquetas con números del 1 al N y anote en la hoja de datos provista qué muestra corresponde a cada tubo. Prepare una dilución de 1:50 de cada muestra utilizando el diluyente de muestras de complemento (p. ej., 10 µL de muestra de ensayo con 490 µL de diluyente de muestras de complemento). Mezcle bien pero evite la formación de espuma y burbujas. No guarde ni vuelva a utilizar las muestras diluidas. Si la concentración medida de complejos inmunes en una muestra es superior a la concentración del patrón C y desea obtener un resultado final más preciso, vuelva a ensayar la muestra a una dilución de 1:200 (cuatro veces la dilución 1:50). **Nota:** las muestras que han dado concentraciones de CIC inferiores a la del patrón C no deben diluirse nuevamente ni someterse a nuevos ensayos.

5. Incorporación de las muestras diluidas a los pocillos de microensayo

Puede utilizarse uno de dos métodos para incorporar las muestras diluidas, los patrones, los controles y el tampón en los pocillos. Vea el Paso 3 del Procedimiento de ensayo. Para ciclos de ensayo pequeños en los que sólo se analiza una pequeña cantidad de muestras, las muestras diluidas y otros reactivos pueden añadirse directamente a los pocillos asignados con una micropipeta (100 µL/pocillo). En el caso de ciclos pequeños o grandes, especialmente en estos últimos, recomendamos el uso de un pipetero multicanal para añadir las muestras como se indica a continuación. **(Este último procedimiento también puede utilizarse para facilitar la incorporación del conjugado, la solución de sustrato y la solución de parada.)**

A fin de cargar los patrones, controles y muestras diluidas en los pocillos de microensayo lo más rápidamente posible, puede utilizarse un procedimiento de “réplica en placas.” En lugar de añadir 100 µL de cada patrón, control o muestra diluida a los pocillos recubiertos con C1q de forma individual, pueden añadirse 120-130 µL de cada solución a pocillos individuales en una placa testigo (no suministrada) correspondiente al patrón de enzimoimmunoensayo final deseado. Una vez incorporadas a los pocillos de microensayo de la placa testigo todas las soluciones que se desean someter a ensayo, transfiera rápidamente 100 µL de cada pocillo testigo a los pocillos recubiertos con C1q utilizando un micropipetero multicanal. Para evitar la posibilidad de contaminación cruzada, deben cambiarse las puntas de la pipeta cada vez que cambie la composición de las muestras que se desean transferir.

6. Diluyente de confirmación (opcional)

Si desea verificar los resultados positivos obtenidos, determine el número (N) de muestras que desea confirmar. Identifique los tubos de ensayo con etiquetas con números del 1c al Nc y anote en la hoja de datos provista qué muestra corresponde a cada tubo. Prepare la dilución adecuada (1:50 ó 1:200) utilizando el diluyente de confirmación. Las muestras diluidas en este diluyente deben analizarse de forma simultánea en el diluyente de muestras de complemento con la misma dilución.

7. Preparación de la solución de sustrato

Prepare la solución inmediatamente antes de utilizarla. Determine el volumen requerido de solución de sustrato consultando la Tabla 1. Prepare la solución de sustrato añadiendo 50 µL de concentrado de sustrato por cada mL de diluyente de sustrato. Mezcle bien.

Tabla 1
Requisitos Del Ensayo

Pocillos ¹	Tiras de 8 pocillos	Solución de sustrato requerida (mL)	Diluyente de sustrato (mL)	Concentrado de sustrato (µL)
16	2	1,6	2,0	100
24	3	2,4	3,0	150
32	4	3,2	4,0	200
40	5	4,0	5,0	250
48	6	4,8	5,0	250
56	7	5,6	6,0	300
64	8	6,4	7,0	350
72	9	7,2	8,0	400
80	10	8,0	9,0	450
88	11	8,8	9,0	450
96	12	9,6	10,0	500

¹Determine el número de muestras que desea analizar y añada siete (7) pocillos para los tres patrones que desea analizar (por duplicado) y un pocillo testigo. Se recomienda analizar los patrones y controles por duplicado en tiras de microensayo separadas siempre que sea posible.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Lea el prospecto del producto en su totalidad antes de iniciar el ensayo.

Vea la sección PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS antes de continuar.

Sujete la placa firmemente durante toda la manipulación para evitar extraer accidentalmente el retén de la tira.

1. Tome nota de las posiciones de los pocillos correspondientes a todas las muestras de ensayo y patrones, así como los números de lote indicados en las etiquetas de los viales. Marque una esquina de la placa de microensayo a modo de orientación.
2. Prepare las tiras de microensayo de la siguiente forma:
 - a. Rehidrate los pocillos de microensayo añadiendo aproximadamente 300 µL de solución de lavado a cada pocillo utilizando una botella para lavado o un dispositivo de lavado de placas automático.
 - b. Incube a temperatura ambiente (15°C a 30°C) durante 15-20 minutos.
 - c. Elimine el líquido de los pocillos.
 - d. Invierta la placa y golpéela con fuerza sobre papel absorbente dos veces para eliminar todo el líquido restante. **No deje que los pocillos se sequen.**
3. Añada 100 µL de diluyente de muestras de complemento a los pocillos testigo que se utilizarán con el lector de placa.
4. Añada 100 µL de cada patrón CIC-C1q reconstituido (A, B y C) a los pocillos correspondientes por duplicado.
5. Añada 100 µL de cada muestra diluida a los pocillos asignados. Vea la sección *PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS*, Paso 5.
6. Incube a temperatura ambiente (15°C a 30°C) durante 60 ± 1 minutos.
7. Lave los pocillos de microensayo como se indica a continuación:

Nota: el procedimiento de lavado de los pocillos de microensayo puede realizarse manualmente o con un lavador de placas automático.

- a. Después de la incubación del paso 6 (y del paso 9 a continuación), elimine el contenido de cada pocillo.
- b. Añada aproximadamente 300 µL de solución de lavado a cada pocillo utilizando una botella para lavado o un dispositivo lavador de placas automático.
- c. Incube los pocillos durante 1 minuto a temperatura ambiente (15°C a 30°C).
- d. Elimine el contenido de cada pocillo.
- e. Añada aproximadamente 300 µL de solución de lavado a cada pocillo.
- f. Elimine el contenido de cada pocillo.
- g. Repita los pasos e-f tres veces más.**
- h. Después de este quinto ciclo de lavado, invierta la placa y golpéela con fuerza sobre papel absorbente dos veces para eliminar todo el líquido restante.
8. Utilizando una pipeta multicanal o de repetición, aplique 50 µL del conjugado en cada pocillo de ensayo lavado, incluyendo los pocillos testigo.
9. Incube las tiras de microensayo a temperatura ambiente (15°C a 30°C) durante 30 ± 1 minutos. Prepare la solución de sustrato durante la incubación (vea la sección *PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS*, paso 8).
10. Lave los pocillos de microensayo después de la incubación de 30 minutos del paso 9, tal como se describe en la sección *PROCEDIMIENTO DE ENSAYO*, paso 7.
11. Inmediatamente después del procedimiento de lavado, aplique 100 µL de la solución de sustrato recién preparada a cada pocillo, incluyendo los pocillos testigo.
12. Incube las tiras de microensayo a temperatura ambiente (15°C a 30°C) durante 30 ± 1 minutos.
13. Añada 50 µL de solución de parada a cada pocillo para detener la reacción enzimática. La solución de parada debe añadirse a los pocillos en el mismo orden y a la misma velocidad que la solución de sustrato. Golpee suavemente la placa para que la formación de color sea uniforme.
14. Determine el valor de absorbancia a 405 nm para cada pocillo de ensayo dentro de una hora después de añadir la solución de parada (paso 13), realizando una corrección en blanco según el sistema espectrofotométrico en uso.
15. Deseche las muestras diluidas restantes, el sustrato y las puntas de microensayo usadas (vea la sección *ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES*). Conserve el soporte y el retén de la tira para su uso futuro.

MÉTODO DE CONFIRMACIÓN RECOMENDADO

En caso de requerir una confirmación independiente de un resultado positivo, o si un resultado positivo no es congruente con la interpretación clínica, puede realizarse un nuevo ensayo de la muestra positiva utilizando una prueba de confirmación. Los resultados negativos no pueden confirmarse. El método de confirmación utiliza un diluyente de muestras (el diluyente de confirmación), que contiene una alta concentración de cloruro de sodio.^{6,7} Para confirmar un resultado positivo, debe diluirse una alícuota de la muestra (1:50 ó 1:200) en el diluyente de confirmación y una segunda alícuota con la misma dilución en el diluyente de muestras de complemento. A continuación, se analizan ambas muestras según los procedimientos de ensayo de CIC-C1q habituales. Vea más detalles en las secciones *PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS* e *INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS*.

CONTROL DE CALIDAD

Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan incluir controles positivos y negativos en cada ensayo. Con tal fin Quidel ofrece controles para el ensayo de CIC-C1q de MicroVue (controles CIC-C1q, cód. A013), los cuales deben utilizarse según se indica en el prospecto incluido en su envase.

Además de los controles, este ensayo también incluye un *MÉTODO DE CONFIRMACIÓN RECOMENDADO* y *PARÁMETROS DE VALIDACIÓN*.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Cálculos

La curva estándar se genera utilizando los valores A_{405} sustraídos del testigo de cada patrón (en el eje Y) en función de la concentración asignada de cada patrón (en el eje X). La curva estándar generada debe

cumplir con los requisitos de validación. La mayoría de los ordenadores y calculadoras es capaz de realizar este cálculo. En la Figura 1 se muestra un ejemplo de una curva estándar típica.

La concentración de $\mu\text{g Eq/mL}$ para cada muestra se calcula a partir de la curva estándar utilizando análisis de regresión lineal.

Ajuste del factor de dilución

La concentración de CIC asignada indicada en las etiquetas de los viales de patrón CIC-C1q se ha determinado suponiendo una dilución de 1:50 de la muestra. Si la dilución de la muestra analizada es mayor, el usuario deberá multiplicar el resultado calculado por el factor de dilución adecuado. Por ejemplo, si la dilución de muestra analizada fue de 1:200, el resultado calculado debe multiplicarse por 4.

Cálculo de la prueba de confirmación

Para confirmar un resultado positivo, la concentración del complejo inmune [CIC] determinada en la muestra diluida en el diluyente de confirmación se divide por la concentración del complejo inmune medida en la muestra diluida en el diluyente de muestras de complemento para generar una relación:

$$\text{relación} = \frac{\text{[CIC] en diluyente de confirmación}}{\text{[CIC] en diluyente de muestras de complemento}}$$

Validación

Determine la pendiente, intersección Y y coeficiente de correlación de la línea de ajuste óptimo derivada. Los valores deben encontrarse dentro de los intervalos especificados para aprobar el ensayo:

coeficiente de correlación (r):	> 0,95
pendiente (m):	0,022 a 0,056
intersección Y (b):	(-)0,108 a (+)0,238

Interpretación

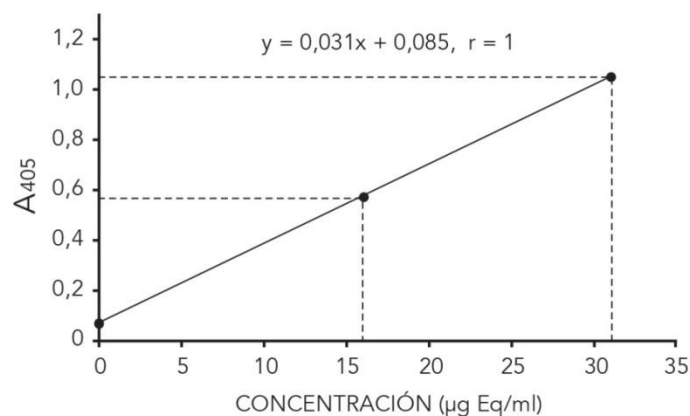
Resultados negativos: los valores inferiores o iguales a $4 \mu\text{g Eq/mL}$ se consideran niveles de CIC normales.

Resultados positivos: los valores superiores o iguales a $4 \mu\text{g Eq/mL}$ se consideran niveles de CIC anormales.

Resultados de confirmación: si la relación es inferior a 0,7, el resultado CIC positivo queda confirmado. En otras palabras, una reducción de más del 30% confirma un resultado positivo.

Ocasionalmente, las muestras positivas no pueden confirmarse. Esto puede deberse a, entre otras razones: (1) la mala manipulación de las muestras (p. ej. contaminadas o inactivadas por calor) o (2) las muestras contienen autoanticuerpos anti-C1q. Estas muestras no son necesariamente negativas en cuanto a la presencia de CIC. El material que causa el resultado positivo falso aparente puede enmascarar la presencia de CIC concomitantes que, si estuvieran presentes solos, darían un resultado positivo confirmable.

Figura 1
Ejemplo de curva estándar



Muestra	(A ₄₀₅)	µg Eq/mL
Patrón A	0,09	0
Patrón B	0,57	16
Patrón C	1,05	31
Muestra 1	0,19	4
Muestra 2	0,82	24
Muestra 3	0,40	11
$r = 1,00$	$m = 0,031$	$b = 0,085$

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La inactivación por calor de las muestras puede dar lugar a resultados positivos falsos. Debido a que este ensayo mide agregados de IgG humana de forma no selectiva, deben evitarse condiciones que promuevan el agregado de IgG durante la recogida y procesamiento de las muestras.

El enzimoimmunoensayo de CIC-C1q de MicroVue se ha utilizado para analizar muestras recogidas como suero o plasma en anticoagulante EDTA. No se han analizado otros anticoagulantes.

VALORES ESPERADOS

Se midieron los complejos inmunes circulantes (CIC) en sueros de 312 pacientes utilizando el enzimoimmunoensayo de CIC-C1q de MicroVue. Se recogieron ciento seis (106) sueros de pacientes normales asintomáticos. La concentración de CIC promedio fue de 2,1 µg Eq/mL (D.E. = 1,9).

Se analizaron las muestras obtenidas de 206 pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) u otros trastornos, utilizando el enzimoimmunoensayo de CIC-C1q de MicroVue y otro kit de enzimoimmunoensayo disponible en el mercado. La coincidencia general entre los dos métodos de prueba fue del 87%.

Dentro de la población anterior, se analizaron ochenta y un (81) pacientes con LES y treinta y tres (33) pacientes con AR. Los dos kits coincidieron en el 82% de estas muestras. Estos resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2
Datos Comparativos Para Grupos De Pacientes Específicos

Resultado de la prueba de MicroVue	-	+	-	+
Resultado de la prueba alternativa	-	+	+	-
Pacientes con AR	18	9	3	3
Pacientes con LES	40	23	15	3
Otros trastornos	0	90	2	0

CARACTERÍSTICAS DE COMPORTAMIENTO

Exactitud

Se utilizó un patrón de complejo inmune de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que emplea IgG agregada por calor para estandarizar el ensayo. Para probar la exactitud del ensayo, se analizaron cinco diluciones del patrón de la OMS por triplicado en nueve ciclos de ensayo con el kit de MicroVue. Se determinó que los valores analizados eran predictivos de las concentraciones estándar esperadas (coeficiente de determinación = 0,97).

Se compararon cuarenta y un (41) pares de muestras de suero y plasma (anticoagulante EDTA) de pacientes con LES y AR para comprobar si las muestras de plasma eran adecuadas para el ensayo. No se observó una diferencia significativa entre los resultados con el suero y el plasma ($\alpha = 0,05$).

Reproducibilidad

Se analizaron tres muestras de suero y tres patrones en nueve ciclos de ensayo con kits de tres lotes diferentes. Cada patrón se analizó por triplicado dentro de cada ciclo de ensayo. Cada muestra de suero se analizó en un solo pocillo en cada ciclo. La Tabla 3 muestra la variación promedio entre cada ciclo para las muestras y los patrones como variación intraensayo. La Tabla 3 muestra la variación promedio dentro de cada ciclo para los patrones como variación interensayo.

Tabla 3
Reproducibilidad Del Ensayo

	Media (Eq/mL)	Intra-ensayo S.D. (% CV)	Inter-ensayo S.D. (% CV)
Muestra 1	30	NE	3,1 (10)
Muestra 2	7	NE	2,6 (37)
Muestra 3	0	NE	0,3 (N/A)
Patrón 1	37	3,2 (9)	3,9 (11)
Patrón 2	20	2,1 (10)	1,8 (9)
Patrón 3	0	0,1 (N/A)	0,0 (N/A)

NE = no ensayada N/A = no aplicable

Sensibilidad

La sensibilidad al analito del enzimoimmunoensayo de CIC-C1q de MicroVue es de 1,0 μ g Eq/mL.

Especificidad

Se recogieron y analizaron ciento seis (106) muestras de suero y plasma de pacientes normales asintomáticos para detectar la presencia de CIC. La especificidad general del ensayo fue del 94%.

ASISTENCIA

Para hacer un pedido u obtener servicio técnico, comuníquese con un representante de Quidel al 800.874.1517 (en los Estados Unidos) o al 858.552.1100 (fuera de los Estados Unidos), de lunes a viernes, de 8:00 a. M. A 5:00 p. M., hora de la costa este. También pueden realizarse pedidos por fax al 740.592.9820. Para solicitar asistencia por correo electrónico, envíe un correo electrónico a customerservice@quidel.com o a technicalsupport@quidel.com.

Para obtener asistencia fuera de los Estados Unidos, comuníquese con su distribuidor local. Puede obtener información adicional sobre Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores en el sitio web: quidel.com.

REFERENCIAS

1. McDougal, J.S, McDuffie, F.C., Immune Complexes in Man: Detection and Clinical Significance, *Advances in Clinical Chemistry*, Vol. 24, p. 1, 1985.
2. Endo, L., Corman, L.C., Panush, R.S., Clinical Utility of Assays for Circulating Immune Complexes, *Medical Clinics of North America*, Vol. 69, No. 4, p. 623, July 1985.
3. Abrass, C.K., Nies, K.M., Louie, J.S., Border, W.A., Glasscock, R.J., Correlation and Predictive Accuracy of Circulating Immune Complexes with Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus, *Arthritis Rheum.*, Vol. 23, p. 273, 1980.
4. Duquesnoy, B., Circulating Immune Complexes and Complement in Rheumatoid Arthritis, *Ann. Biol. Clin.*, Vol. 42, p. 71, 1984.
5. Theofilopoulos, A.N., The Raji, Conglutinin, and Anti-C3 Assays for the Detection of Complement-Fixing Immune Complexes, *Methods in Enzymology*, Vol. 74, p. 511, 1981.
6. Agnello, V., Winchester, R.J., Kunkel, H.G., Precipitin Reactions of the C1q Component of Complement with Aggregated Gamma-Globulin and Immune Complexes in Gel Diffusion, *Immunology*, Vol. 19, p. 909, 1970.
7. Hack, C.E., Huijbregts, C.C., Paardekooper, J., Influence of Ionic Strength, EDTA Concentration, Endogenous C1q and Polyanions on the ¹²⁵I-C1q-Binding Test, *J. Immunol. Meth.*, Vol. 72, p. 197, 1984.
8. Richardson, J.H., Barkley, W.E., *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, p. 11–13, 1984.
9. Davidson, I., et al., *The Blood*, p. 1 20. in Cl. Davidson and J.B. Henry (ed.), Todd-Sanford Clinical Diagnosis, W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania, 1969.

REF A001 – MicroVue CIC-C1q Eq EIA Kit

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



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

PIA001001ES00 (04/16)

GLOSARIO

REF

Número del catálogo



Marca CE de conformidad

EC REP

Representante autorizado en la Comunidad Europea

LOT

Código de lote



Fecha de caducidad



Fabricante



Limites de temperatura



Indicaciones



Consulte los instrucciones e-etiquetado de uso



Riesgo biológico

IVD

Para uso diagnóstico *in vitro*



Contiene una cantidad suficiente para 96 determinaciones

CONT

Contenido / Contiene

CONTROL

Control
