

**Et enzymimmunoassay til måling af den totale aktivitet i den klassiske komplementaktiveringsvej i humant serum**

Til *In Vitro* Diagnostisk Anvendelse

## OPSUMMERING

### Klargøring af Reagens, Controls og Prøveeksemplar

- Fortynd Vaskeopløsningskoncentrat 1:20 med deioniseret vand
- Rekonstruere hver Kontrol 100 µl med deioniseret vand  
(Lad Blandingen Hvile I 15 Minutter. Vortex igen og anbring på is.)

### Analyseprocedure

*Kontinuerligt bland Aktivatoren ved at hvirvie under brug*

Tilsæt **86 µl** aktivator til det testrør eller mikrobrønde

Tilsættes **14 µl** serumprøver og kontroller til de enkelte testrør eller mikrobrønde. Bland godt.

Tidækkes testrør eller mikrobrønde og inkubier i **60 ± 1 minutter** ved 37 °C  
(Opbevares ved ≤ -20 °C eller lavere i op til 14 dage)

- Fortyndes de aktiverede prøver og kontroller i forholdet 1:200 i prøvefortynder i rene, ubrugte mikrobrønde eller i testrør.  
**BEMÆRK:** Det anbefalede fortyndingsskema er 5 µl aktiveret prøve eller kontrol +995 µl prøvefortyndingsmiddel

Tilsæt **~300 µl** vaskeopløsning til prøvebrønd

Inkuber i **2 minutter** ved 20 °C til 27 °C

Fjern væsken fra hver brønd (*Piet gold*)

Tilsæt **100 µl** Komplementprøvefortynder (blindprøve), fra hver klar-til-brug Standard, fortyndet, aktiveret Kontroller og fortyndede, aktiverede prøver til prøvebrønd

Inkuber i **60 ± 1 minutter** ved 20 °C til 27 °C

Vask **7 gange** med vaskeopløsning  
(inkuber først vaske 1 min)

Tilsæt **50 µl** Konjugat

Inkuber i **60 ± 1 minutter** ved 20 °C til 27 °C

Vask **7 gange** med vaskeopløsning  
(inkuber først vaske 1 min)

Tilsæt **100 µl** Substratopløsning

Inkuber i **15 ± 1 minutter** ved 20 °C til 27 °C

Tilsæt **100 µl** Stopopløsning

Aflæs optisk densitet ved **450 nm**  
Analysere den angribte resultater benytter en lineær kurve indordne  
( $y = mx + b$ )



## TILSIGTET ANVENDELSE

MicroVue CH50 U Eq EIA måler den totale aktivitet for den klassiske aktiveringsvej i humant serum, og gør det derved muligt at påvise mangel på et eller flere af komplementkomponenterne C1 til C9.

### OPSUMMERING OG FORKLARING

Bindingen af C1q-komponenten i C1 til immunkomplekser aktiverer den klassiske komplementaktiveringsvej. Denne aktivering resulterer i en kaskade af enzymatiske og ikke-enzymatiske reaktioner, der kulminerer med dannelsen af terminale komplementkomplekser (TCC). Under standardforhold er det TCC-niveau, som kan genereres i et serum, et kvantitativt udtryk for serumets totale klassiske komplementaktivitet.

CH50-testen udgør den traditionelle metode til måling af den totale klassiske komplementaktivitet i serum.<sup>1</sup> Denne test er en lytisk analyse, som anvender antistof-sensibiliserede fåreerythrocytter (EA) som aktivator af den klassiske aktiveringsvej, samt forskellige fortyndinger af testserum til bestemmelse af den mængde der kræves for at give en 50 % lysis. Den procentvise hæmolyse bestemmes spektrofotometrisk. CH50-testen udgør en indirekte måling af TCC, da TCC selv er direkte årsag til den hæmolyse, der måles.

MicroVue CH50 Eq-EIA giver en direkte måling af den totale klassiske komplementaktivitet i serum gennem kvantificering af den mængde TCC der dannes under standardforhold. MicroVue CH50 Eq EIA anvender et monoklonalt antistof til et unikt neoantigen for at fange TCC-analytten. Da både CH50 Eq EIA og CH50-testen er baseret på dannelse af TCC og korrelat, anføres resultaterne fra CH50 Eq EIA i CH50-enhedsækvivalenter per milliliter.

### PROCEDURENS PRINCIP

CH50 Eq EIA til kvantificering af den totale klassiske komplementaktivitet i humant serum involverer tre grundlæggende procedurer: (1) Komplementaktivering, (2) prøvefortynding og (3) analyse for terminale komplementkomplekser (TCC).

For at aktivere den klassiske aktiveringsvej tilsættes ufortyndede humane serumprøver og kontroller til mikrobrønde og testrør med aktivator. Under inkubering bliver den klassiske komplementaktiveringsvej aktiveret og der dannes TCC.

I det andet trin fortyndes de aktiverede sera i mikrobrønde eller testrør, hvorefter de dispensereres sammen med kittets standarder direkte ned i mikropladen. Den TCC der er til stede i de aktiverede prøver, binder til de monoklonale antistoffer i coatingen på overfladen af mikrobrøndene.

I det tredje trin vaskes TCC-mikropladen og fyldes med et HRP-konjugat som vil binde til det bundne TCC. Efter vask af TCC-mikropladen fyldes denne med et kromogent enzymsubstrat. Efter inkubering tilsættes et reagens for at standse farveudviklingen. Absorbanserne (værdierne) der genereres med kontroller, kit-standarderne og testprøverne måles spektrofotometrisk. Farveintensiteten på reaktionsblandingen er proportional med den tilstedeværende TCC-koncentration og med CH50-enhederne. Analyseresultaterne udtrykkes i CH50-ækvivalentenheder per milliliter (CH50 U Eq/ml) ud fra kit-standardkurven.

### LEVEREDE MATERIALER OG REAGENSER

CH50 Eq EIA-kittet indeholder følgende:

<b>A Standards</b>	<b>Del A3719–A3723</b>	<b>1 stk, 1.5 ml</b>
<b>B</b>	Hver indeholder humant serum med tildelte CH50-enhedsækvivalenter per ml (U Eq/ml),	
<b>C</b>	proteinstabilisatorer	
<b>D</b>		
<b>E</b>		

<b>N Normal Controls</b>		
<b>Normal kontrol</b>	<b>Del A3724</b>	<b>3 stk, 100 µl</b>
(frysetørret) I rekonstitueret tilstand indeholder hver humant serum		
<b>L Low Controls</b>		
<b>Lav kontrol</b>	<b>Del A3725</b>	<b>3 stk, 100 µl</b>
(frysetørret) I rekonstitueret tilstand indeholder hver humant serum		
<b>1 Microassay Plate</b>		
<b>Mikroplade</b>	<b>Del A3840</b>	<b>1 stk</b>
96-brønd med holder og stativ bestående af 12 otte-brøndsstrips der er coatede med et muse-monoklonalt antistof i en forseglede foliepose med genlukning		
<b>2 Stop Solution</b>		
<b>Stopopløsning</b>	<b>Del A9947</b>	<b>12 ml</b>
Indeholder 1N (4 %) 1N Syre-Hydrochloric		
<b>3 20X Wash Solution Concentrate</b>		
<b>20X Vaskeopløsningskoncentrat</b>	<b>Del A9957</b>	<b>2 stk, 50 ml</b>
Indeholder hver fosfatbufferjusteret saltvand (PBS), 1,0% Tween-20®, og 0,035 % ProClin® 300		
<b>4 Complement Specimen Diluent</b>		
<b>Komplementprøvefortynder</b>	<b>Del A3670</b>	<b>50 ml</b>
Indeholder PBS, 0,05 % Tween-20, 2,5 % proteinstabilisatorer, 0,035 % ProClin 300		
<b>5 TMB Substrate</b>		
<b>TMB Substrat</b>	<b>Del 5059</b>	<b>12 ml</b>
Indeholder 3,3', 5,5' tetramethylbenzidine (TMB) og Hydrogen Peroxide (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )		
<b>6 Conjugate</b>		
<b>Konjugat</b>	<b>Del A3726</b>	<b>7 ml</b>
Indeholder peberrodperoxidase-konjugeret gedeantistof til TCC		
<b>7 Activator</b>		
<b>Aktivator</b>	<b>Del A3718</b>	<b>10 ml</b>
Indeholder humane gammaglobuliner og murine, monoklonale antistoffer i fosfatbufferjusteret saltvand (PBS) med 0,02 % Natriumazid		
<small>Tween-20® er et varemærke tilhørende ICI Americas Inc.  ProClin® er a registreret varemærke tilhørende Rohm and Haas Company.</small>		

## NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDLEVEREDE MATERIALER

- Timer (60 minutter)
- Regnemaskine eller andet beregningsudstyr til validering af analysen.
- Rene, ubrugte mikroplader og/eller testrør og -stativer
- Beholder til vaskebufferfortynding
- Vaskeflaske eller andre vaskesystemer til immunoanalyse
- Justérbar multikanalpipette (8 eller 12 kanaler) eller repeat-mikropipetter (valgfri)
- Rene pipetter, 1 ml, 5 ml, og 10 ml
- Mikropipetter og pipettespidser
- Pladelæser til optiske densitets aflæsninger ved A<sub>450</sub> mellem 0,0 og 3,0
- Ionbyttet eller destilleret vand
- Inkubator eller mikropladevarmer (37 °C)
- Vandbad (37 °C)

## ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Kun til *in-vitro*-diagnostisk brug.
- Prøverne skal behandles som potentielt biologisk risikomateriale. Følg gældende retningslinier for omgang med biologisk risikomateriale ved håndtering af dette kit og alle patientprøver.<sup>4</sup>

- Brug egnet beskyttelsestøj, handsker og øjen-/ansigtsværn ved håndtering af dette kit.
- Brug de leverede reagenser som en integreret enhed inden udløbsdatoen på pakningens etiket.
- Opbevar analysereagenserne som anvist.
- Brug ikke coatede strips, hvis posen er punkteret.
- ProClin 300 anvendes som konserveringsmiddel. Tilfældig kontakt med eller indtagelse af buffer indeholdende ProClin kan medføre irritation af hud, øjne eller mund. Følg god laboratoriepraksis så risiko for udsættelse nedsættes. Søg læge hvis der opleves symptomer.
- Stopopløsningen anses for at være ætsende og kan medføre irritation af hud. Må ikke indtages. Undgå kontakt med hud, øjne og tøj. Hvis der opstår kontakt, skal det pågældende område øjeblikkeligt skylles med vand. Ved indtagelse tilkaldes læge.
- Hver donorenhed, der er anvendt i fremstillingen af standarder og kontrolsera i dette produkt, er testet med en FDA-godkendt metode for antistof mod humant immundefekt virus (HIV1 og HIV2) og mod hepatitis C virus samt for hepatitis B overfladeantigen. Eftersom ingen testmetode kan give fuldstændig garanti for fravær af smittefarlige stoffer, skal disse reagenser behandles efter biosikkerhedsniveau 2 som anbefalet for alle potentielt smittefarlige humane serum- eller bLØDprøver i Centers for Disease Control/National Institutes of Health's vejledning "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2007.
- Brug af multikanalpipetter eller repeat-pipetter anbefales for at sikre en rettidig tilsætning af reagenser.
- Tilsæt prøver og standarder præcist for at sikre en nøjagtig prøveudmåling. Foretag omhyggelig afpipettering og kun ved hjælp af kalibreret udstyr.
- Korrekt udtagning og opbevaring af testprøverne er vigtig for at opnå nøjagtige resultater (se *INDSAMLING OG OPBEVARING AF PRØVER*).
- Undgå mikrobiel krydskontaminering af prøver, reagenser eller materialer. Kontaminering kan medføre ukorrekte resultater.
- Test hver prøve i to eksemplarer.
- Mikrobrøndene må ikke anvendes til mere end en test.
- Anvendelse af andre inkuberingstider og -temperaturer end dem, der er anført i afsnittet *ANALYSEPROCEDURE* kan give fejlagtige resultater.
- TMB-substratet skal beskyttes mod lys under opbevaring og inkubering. Undgå kontakt med øjne, hud og beklædning. Hvis der opstår kontakt, skal det pågældende område øjeblikkeligt skylles med vand.
- Mikrobrøndene må ikke tørre når analysen er begyndt.
- Når væskerne tilsættes til eller aspireres fra mikrobrøndene, skal det undgås at skrabe eller berøre brøndenes bund.
- Varme-inaktiverede, hyperlipæmiske eller kontaminerede prøver kan give fejlagtige resultater.
- For at undgå aerosoldannelse under vaskeprocessen skal der bruges et instrument til at aspirere vaskeopløsningen ned i en flaske med blegemiddel til husholdningsbrug.
- En vaskeflaske eller et automatisk fyldningsudstyr skal bruges til vask af pladen (*ANALYSEPROCEDUREN*, Trin 9). Brug, for at få de bedste resultater, ikke en multikanalpipette til vask af mikroanalysepladen.
- Beholdere og ikke anvendt indhold bortskaffes i overensstemmelse med de nationale, regionale og lokale bestemmelser.

#### **OPBEVARING**

Opbevar det uåbnede kit ved 2 °C til 8 °C. I åbnet tilstand kan 20X vaskeopløsningskoncentrat opbevares ved 2 °C til 30 °C.

Efter valg af reagenser eller materialer til analysen, stilles de reagenser, der ikke skal anvendes, omgående tilbage til deres opbevaringstemperaturer. Reagenser og materialeR til analysen skal bringes op på stuetemperatur (20°C til 27 °C) inden brug.

## INDIKATIONER OM USTABILITET ELLER FORRINGELSE AF REAGENSERNE

Uklarhed eller misfarvning af fortyndet vaskeopløsning indikerer, at der er sket en forringelse af den pågældende reagens. Hvis dette forekommer, skal opløsningen smides ud.

Aktivatoren kan indeholde partikler. Dette er normalt og påvirker ikke analysens ydeevne.

## PRØVEUDTAGNING OG OPBEVARING

*Der skal anvendes serum som prøver ved denne analyse. Plasma må ikke anvendes.*

**Håndtering og bortskaffelse af alle prøver skal foregå i overensstemmelse med gældende retningslinier.**

Korrekt udtagning, behandling, opbevaring og forsendelse af prøverne er vigtig da komplementet kan aktiveres ved ukorrekt håndtering af prøverne. Dette kan medføre fejlagtige resultater.

Alle prøver skal udtages under aseptiske forhold og klargøres i overensstemmelse med standardteknikker for laboratorieanalyse. Prøver kan opbevares op til 2 timer ved stuetemperatur, op til 4 timer på is, op til 3 dage ved 4 °C og længere tid ved -70 °C eller lavere. Frys og tøj ikke prøver mere end seks gange. Frosne prøver skal analyseres hurtigst muligt efter optøning eller opbevares på is indtil de skal analyseres (og ikke længere end fire timer).

Prøverne skal pakkes i rigelige mængder tøris ved forsendelse. Prøver der er optøede ved ankomst til teststedet kan være forringede. Efter modtagelse af forsendelsen kan prøverne opbevares ved -70 °C eller lavere.

## KLARGØRING AF REAGENS

Efter at de nødvendige reagenser og materialer er taget fra, stilles de reagenser der ikke skal anvendes omgående tilbage til opbevaringstemperaturerne (Se *OPBEVARING*). Reagenser og materialer til analysen skal bringes op på stuetemperatur (20°C til 27 °C) inden brug.

### 1. Vaskeopløsning

Bland 20X vaskeopløsningskoncentratet ved at vende flasken på hovedet adskillige gange. Hvis 20X vaskeopløsningskoncentratet er blevet opbevaret ved 2 °C til 8 °C, kan der være dannet krystaller. Krystallerne opløses ved at opvarme flasken i vandbad på 37 °C til -50 °C indtil alle krystallerne er opløst hvorefter der blandes grundigt. Vaskeopløsningen klargøres ved at fortynde hele indholdet af en flaske med 20X vaskeopløsningskoncentrat med en liter destilleret eller ionbyttet vand. Bland godt. Vaskeopløsningen er stabil i 30 dage, når den opbevares i en ren beholder ved 2 °C til 8 °C. Hvis der opstår uklarhed eller misfarvning, smides reagensen ud.

### 2. Valg af mikroanalysestrips

Bestem hvor mange brønde der er nødvendige til analysen. Det anbefales, at blindprøvebrønde, kontroller og standarder testes i duplikat. Fjern stripholderen fra den samlede plade Fjern unødvendige strips og læg dem i en opbevaringspose som forsegles og opbevares ved 2 °C til 8 °C. De strips der skal anvendes i analysen gøres fast.

### 3. Fortynding af prøver

***FORSIGTIG: Håndtér alle prøver som værende potentielt infektiøse. Brug ikke varme-inaktiverede, kontaminerede eller ukorrekt opbevarede prøver. Der skal anvendes serumprøver til denne analyse.*** Serumprøverne skal optøes hurtigt ved at anbringe dem kort tid i vandbad på 37 °C. Når prøverne er optøet, anbringes de omgående på is indtil analysens aktiveringstrin (se *ANALYSEPROCEDURE*) Testprøverne må ikke fortyndes før aktivering.

#### 4. Klargøring af normale og lave kontroller

Tilsæt 100 µl ionbyttet eller destilleret vand til hvert hætteglas med frysetørret, normal og lav kontrol. Bland hurtigt så det rekonstitueres, og lad blandingen hvile i femten (15) minutter ved stuetemperatur. Vortex igen og anbring på is indtil aktiveringstrinet.

### ANALYSEPROCEDURE

#### Læs hele indlægssedlen inden analysen startes.

Se *KLARGØRING AF REAGENS*, og *ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER* inden der fortsættes.

1. **Aktivering af prøver og kontroller.** Bland aktivatoren som indeholder let suspenderbare partikler, ved at hvirvle flasken før brug. Der hvirvles hyppigt under dette analysetrin så suspensionen af partiklerne bevares. Tilsæt 86 µl aktivator til det passende antal testrør eller mikrobrønde.\* Derefter tilsættes 14 µl ufortyndede serumprøver, normal kontrol og lav kontrol til de enkelte testrør eller mikrobrønde med aktivator. Bland godt. Tildækkes så fordampning minimeres. Inkubér ved 37 °C i tres (60) minutter. (**TIP:** Hvis det ønskes at køre prøverne i batches, kan de ufortyndede, aktiverede prøver opbevares ved – 20 °C eller lavere i op til 14 dage inden der fortsættes til næste trin.)  
\* Antallet af testrør eller mikrobrønde der er påkrævet ved aktiveringen svarer til antallet af testprøver plus to (2) ekstra til aktivering af de to kontroller.
2. **Fortynding af aktiverede prøver og kontroller.** Efter aktivering fortyndes de aktiverede prøver og kontroller i forholdet 1:200 i prøvefortynder i rene, ubrugte mikrobrønde eller i testrør.  
**BEMÆRK:** Det anbefalede fortyndingsskema er 5 µl aktiveret prøve eller kontrol + 995 µl prøvefortyndingsmiddel.
3. Klargør strips til mikroanalysen som følger:
  - a. Rehydrér mikroanalysesbrøndene ved at fylde hver af dem med vaskeopløsning (250–300 µl brønd) med en vaskeflaske eller et automatiseret instrument.
  - b. Inkubér i to minutter ved stuetemperatur (20°C til 27 °C).
  - c. Fjern væsken fra hver brønd.
  - d. Vend pladen om og læg den oven på trækpapir og bank gentagne gange så tilbagebleven væske fjernes.
4. Tilsæt 100 µl prøvefortynder til de duplikatbrønde, der skal bruges som blindprøver i pladelæseren.
5. Tilsæt 100 µl fra hver klar-til-brug Standard (A-E) til duplikatbrøndene. **Bemærk at standarderne allerede er fortyndede og er klar til brug.**
6. Tilsæt 100 µl fortyndet, aktiveret normal og lav kontrol til duplikatbrøndene.
7. Tilsæt 100 µl fra hver fortyndede prøve i duplikat til dennes tildelte mikrobrønd.
8. Inkubér i 60 ± 1 minutter ved stuetemperatur (20°C til 27 °C).
9. Vask mikropladen som følger: Bemærk: Det anbefales **ikke** at anvende en multikanalpipette ved dette analysetrin.
  - a. Efter inkuberingen ved trin 8 (eller i trin 12 nedenfor), fjernes væsken fra hver brønd.
  - b. Fyld hver brønd med vaskeopløsning (250-300 µl/brønd) med en vaskeflaske, automatisk pladevasker eller et andet instrument.
  - c. Inkubér brøndene i 1 minut ved stuetemperatur (20°C til 27 °C).
  - d. Fjern væsken fra hver brønd.
  - e. Fyld alle brøndene med vaskeopløsning (250–300 µl/brønde).
  - f. Fjern væsken fra hver brønd.
  - g. **Gentag trin e-f yderligere fem gange.**
  - h. Efter den syvende vaskecyklus vendes pladen om og lægges oven på trækpapir idet der bankes let gentagne gange så evt. tilbagebleven væske fjernes.
10. Idet der anvendes en multikanalpipette, dispenseres 50 µl fortyndet konjugat ned i hver vasket prøvebrønd, inkl. de brønde der er beregnede til blindprøver.
11. Inkubér mikrostripsene i 60 ± 1 minutter ved stuetemperatur (20°C til 27 °C).
12. Vask mikrobrøndene efter de 60 minutters inkubering som beskrevet i trin 9.
13. Straks efter vaskeproceduren dispenseres 100 µl TMB Substrat ned i hver brønd, inkl. blindprøvebrøndene.
14. Inkubér mikrostripsene i 15 ± 1 minutter ved stuetemperatur (20°C til 27 °C).

15. Tilsæt 100 µl stopopløsning til hver brønd så den enzymatiske reaktion standses. Stopopløsningen skal tilsættes til brøndene i samme rækkefølge og ved samme hastighed som substratopløsningen. Bank let på pladen så farveudviklingen spredes jævnt.
16. Bestem absorbansen ved aflæsning ved 450 nm ( $A_{450}$ -værdi) af hver brønd inden for en time efter tilsætning af stopopløsning idet der foretages nødvendige blindprøvekorrigeringer. Det er ikke nødvendigt med et referencefilter.
17. Bortskaf de resterende fortyndede prøver, aktivator, kontroller og brugte mikroanalysestrips (Se *ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER*) Gem stripstativ og stripholder til fremtidig brug.

## KVALITETSKONTROL

God laboratoriepraksis anbefaler brug af kontroller for at sikre, at analysen udføres korrekt. Hvert CH50 Eq EIA-kit indeholder normale og lave kontroller, som kan anvendes til dette formål. Disse kontroller skal testes mindst en gang for hver parti af prøver og for hver aktiveringskørsel. Disse kontroller skal, når de bruges som anvist, give en CH50 enhed tilsvarende værdier inden for de områder, der angives på deres analysecertifikatet. Da disse kontroller skal aktiveres, fortyndes og teste nøjagtigt som en typisk prøve, de fungerer både som kontroller og referencestandarder for hver aktivering og CH50 Eq EIA-kørsel. Eksterne kontroller, der klargøres af dit laboratorium, kan også bruges til at hjælpe med at sikre, at analysen udføres korrekt.

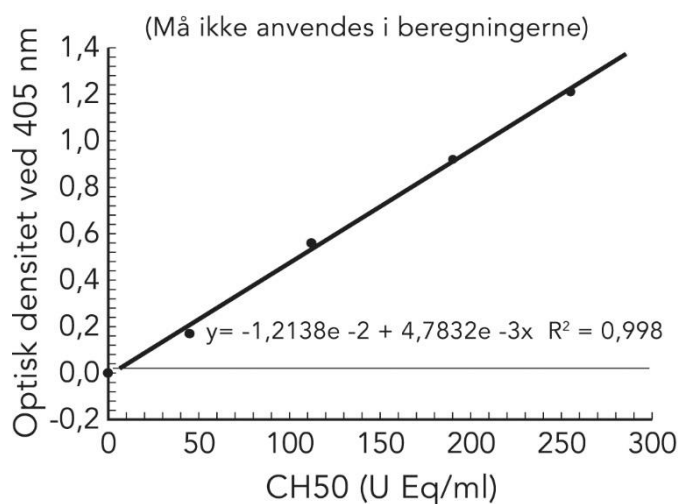
Desuden er der i indlægssedlen opstillet krav til at de standardkurver, der genereres med kit A-E-standarder opfylder strenge valideringskrav. (se *FORTOLKNING AF RESULTATER*). Standarderne bør testes i duplikat for hver analysekørsel. Hvis analysen ikke opfylder disse krav, skal den gentages eller Quidel teknisk assistance kontaktes.

## FORTOLKNING AF RESULTATER

**Brug af standardkurven:** Standardkurven for CH50 Eq EIA genereres ved at bruge de blindfratrukkede  $A_{450}$ -værdier for hver standard (på y-aksen) og den tildelte koncentration for hver standard (langs x-aksen). Standardkurven skal opfylde valideringskravene. De fleste computere og regnemaskiner er i stand til at udføre disse beregninger. Et eksempel på en typisk standardkurve er vist i Figur 1.

**Figur 1**  
**Eksempel på standardkurve**

Eksempel på 5-punkts CH50 Eq EIA-standardkurve



**Beregning af det aktuelle CH50 Eq-niveau i patientprøver:** Prøveværdier beregnes ud fra standardkurven ved hjælp af en lineær regressionsanalyse. CH50 U Eq/ml kan aflæses direkte af standardkurven for de testprøver der blev aktiveret og fortyndet i forholdet 1:200 før analysen. Værdierne (U Eq/ml) for de normale og lave kontroller kan også aflæses direkte af standardkurven, da de også blev fortyndet i forholdet 1:200.

For at CH50 kan bestemmes nøjagtigt i de testprøver der giver  $A_{450}$  værdier, der er højere end dem fra CH50 Eq EIA standard E (eller  $A_{450}$  værdier lavere end dem, der opnås med standard A) kan testprøverne genanalyseres ved en anden fortynding, således at de nye  $A_{450}$  værdier kommer til at ligge inden for disse grænser. Hver gang en analyse gentages skal standarderne og kontrollerne også testes.

Hvis en prøve køres ved en anden fortyndingsgrad end 200, skal CH50-niveauet for den pågældende prøve bestemmes ved korrigeret for forskellen mellem den undersøgte fortynding og den sædvanlige 200 X fortynding. For eksempel hvis en prøve fortyndes 100 gange i stedet for 200 gange som normalt og den lineære regressionskurve giver en koncentration på 100 CH50 U Eq/ml, da er den aktuelle CH50 U Eq/ml i prøven 50 (dvs. 100 CH50 U Eq/ml divideret med 2).

## Validering

CH50 U Eq/ml beregnes for de normale og lave kontroller. Desuden bestemmes korrelationskoefficienten (r) og y-skæringspunkt (b) fra den udledte best-fit lineære kurve for de værdier der blev opnået med A-E-standarderne. For at analysen kan valideres, skal r-, b- og kontrolværdierne ligge inden for nedenstående områder.

---

korrelationskoefficient (r): > 0,96

y-skæringspunkt (b): (-)0,090 til (+)0,068

hældning (m): 0,0033 til 0,0089

Normale & lave kontrolværdier: Indenfor områderne angivet på analysecertifikatet.

---

## PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

MicroVue CH50 Eq EIA er blevet anvendt til at teste prøver udtaget som serum. Den kliniske ydeevne for plasmaprøver præpareret med andre antikoagulanter, er ikke blevet bestemt.

## FORVENTEDE VÆRDIER

Tohundredefireogtredive (234) normale og anormale serumprøver blev testet i MicroVue CH50 Eq EIA. Der blev opnået en gennemsnitsværdi for den normal prøvpopulation på  $133 \pm 54$  CH50 U Eq/ml. Det opnåede gennemskæringspunkt med Receiver Operator Characteristics (ROC)-analysen<sup>2</sup> for disse normale og anormale serumprøver var 70 CH50 U Eq/ml. Hvert laboratorium bør etablere sit eget normalområde. Med MicroVue CH50 Eq EIA blev der analyseret tohundredeogtyve (221) patientprøver på et større klinisk referencelaboratorie i USA. Når gennemskæringspunktet på 70 CH50 Eq U/ml samt ROC-analysen medtages, var den samlede nøjagtighed for CH50 Eq EIA sammenlignet med de kombinerede resultater fra tre hæmolytiske og en EIA-baseret analyse højere end 97 %.

**Ved traditionelle målinger for klinisk ydeevne gav MicroVue CH50 Eq EIA også en klinisk nøjagtighed, der var højere end 97 % med en sensitivitet på 93,2 % og en specificitet på 99,4 %.** Når der anvendtes Bablok Passing Algoritme-metoden<sup>3</sup>, stemte de opnåede CH50 U Eq-værdier med MicroVue CH50 Eq EIA tæt overens med de CH50-værdier der blev opnået ved den traditionelle hæmolytiske analysen der blev rapporteret af det kliniske laboratorie, og gav et signifikansniveau på  $p < 0,001$ .



## PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA

### Præcision

Under kørsel og mellem kørsler præcision blev aflæst ved kørsel af 16 replikater af 4 serum prøver i 10 forskellige kørsler.

Prove	CH50 (U Eq/ml)	Under kørsel <sup>1</sup> C.V. (%)	Mellem kørsler <sup>2</sup> C.V. (%)
Serum	150,4	3,2	6,0
	59,96	4,5	5,4
	98,84	3,6	8,7
	48,86	3,9	6,2

<sup>1</sup>n = 16 replikater    <sup>2</sup>n = 10 kørsler

### ASSISTANCE

For serviceydelser uden for USA eller for teknisk assistance, kontaktes den lokale distributør. Yderligere information om Quidel, vores produkter og vore distributører kan findes på OH [quidel.com](http://quidel.com).

### REFERENCER

1. Mayer, M.M. Complement and Complement Fixation. In: Kabat E.A., Mayer, M.M., eds. *Experimental Immunochemistry*. 2nd ed. Springfield: Charles C Thomas, 1961:133-71.
2. "Assessment of the Clinical Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic (ROC) Plots." Tentative Guideline, Dec. 1993. *NCCLS Document GP109-T*, Vol. 13, No 28.
3. Passing, H. And W. Bablok. "A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 21(1): 709-720 (1983).
4. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.

MicroVue er et varemærke tilhørende Quidel Corporation. Ethvert andet varemærke indeholdt i dette dokument tilhører den respektive ejer, og dets anvendelse heri indebærer ikke sponsoring eller godkendelse af produkter eller tjenester.

**REF** A018 – MicroVue CH50 Eq EIA Kit

**IVD**



**EC REP**

MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover,  
Germania



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

**PIA018003DA00 (09/21)**

---

**REF**

Katalognummer



CE-mærket for overensstemmelse

---

**EC REP**

Autoriseret repræsentant i det Europæiske

**LOT**

Batch-code

---



Anvendes inden



Producent

---



Temperaturbegrænsning



Tilsluttet anvendelse

---



Konsultere brugsanvisningen e-mærkning af



ADVARSEL: Farlig ved indtagelse (oral)

---



Biologisk fare

**IVD**

Til *in vitro* diagnostisk anvendelse

---



Indeholder nok til 96 bestemmelser

**CONT**

Inghold/Indeholder

---

**CONTROL**

Prøve

---