

**Enzimoimmunoensayo para medir la actividad total de la vía clásica del complemento en suero humano**

Para uso diagnóstico *in vitro*

## RESUMEN

### Preparación del Reactivo, Control y de la Muestra

- Diluya la Concentrado de Solución de Lavado 1:20 con agua desionizada
- Reconstituya cada control con 100 µl acqua desionizada  
(Déjelo por 15 minutos. Agitar en el vórtex y coloque en hielo.)

### Procedimiento de ensayo

*Continuamente mezcle el activator remolinando durante de usuario*

Añada **86 µl** de Activator a los tubos de ensayo o pocillos de microensayo

Añada **14 µl** de Muestras y Controles a los tubos de ensayo individuales o pocillos de microensayo y mezcle con cuidado

Cubra los tubos de ensayo individuales o pocillos de microensayo y incubar **60 ± 1 minutos** a 37 °C (puede guardar a ≤ -20° C o a una temperatura inferior hasta 14 días)

- Diluya las Muestras activadas y los Controles activados en 1:200 con Diluyente de Muestra en pocillos de microensayo limpios  
**NOTA:** La esquema de dilución recomendado es de 5 µl de muestra activada o control + 995 µl de diluyente de muestra.

Añada **~300 µl** d Solución de Lavado a pocillos de ensayo

Incubar **2 minutos** a 20 °C a 27 °C

Elimine el líquido de cada pocillo (Mancha seca)

Añada **100 µl** de Diluyente de Muestra (blanco), de cada Patrón listo para usar, los Controles activados y diluidos y cada Muestra de Ensayo activada y diluida a los pocillos de ensayo

Incubar **60 ± 1 min** a 20 °C a 27 °C

Lave **7X** con la Solución de Lavado  
(incube la primera tiempo 1 min)

Añada **50 µl** de Conjugado

Incubar per **60 ± 1 min** a 20 °C a 27 °C

Lave **7X** con la Solución de Lavado  
(incube la primera tiempo 1 min)

Añada **100 µl** de Solución de Sustrato

Incubar **15 ± 1 min** a 20 °C a 27 °C

Añada **100 µl** de Solución de Parada

Leer densidad optica a **450 nm**  
Analice los resultados del análisis usando en ajuste lineal de la curva  
( $y = mx + b$ )

El enzoinmunoensayo de CH50 Eq de MicroVue mide la actividad total de la vía clásica del complemento en suero humano y permite la detección de deficiencias en uno o más de los componentes del complemento C1 a C9.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La unión del componente C1q de C1 a complejos inmunes activa la vía clásica del complemento. Esta activación da como resultado una cascada de reacciones enzimáticas y no enzimáticas, que culminan en la formación de complejos de complemento terminales (CCT). Bajo condiciones normales, el nivel de CCT que puede generarse en un suero es una expresión cuantitativa de la actividad total de la vía clásica del complemento en el suero.

El método tradicional para medir la actividad total de la vía clásica del complemento en el suero es el ensayo CH50.<sup>1</sup> Este ensayo es un análisis lítico, que utiliza eritrocitos de oveja sensibilizados a anticuerpos (EA) como activador de la vía clásica del complemento y varias diluciones del suero del ensayo para determinar la cantidad requerida para producir una lisis del 50 %. La hemólisis porcentual se determina mediante espectrofotometría. El ensayo CH50 es una medida indirecta de los CCT, ya que los CCT son directamente responsables de la hemólisis que se mide.

El enzoinmunoensayo de CH50 Eq de MicroVue proporciona una medida directa de la actividad total de la vía clásica del complemento en el suero cuantificando la cantidad de CCT generados bajo condiciones normales. El enzoinmunoensayo CH50 Eq de MicroVue utiliza un anticuerpo monoclonal contra un neoantígeno único para capturar el analito de los CCT. Debido a que tanto el enzoinmunoensayo de CH50 Eq como la prueba CH50 dependen de la generación de CCT y correlatos, los resultados del enzoinmunoensayo de CH50 Eq se expresan en unidades CH50 equivalentes por mililitro.

## PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El enzoinmunoensayo de CH50 Eq de MicroVue para cuantificar la actividad total de la vía clásica del complemento en suero humano se divide en tres procedimientos básicos: (1) activación del complemento, (2) dilución de la muestra y (3) ensayo de los complejos de complemento terminales (CCT).

Para activar la vía clásica del complemento, se añaden muestras de suero humano sin diluir y los controles a los pocillos de microensayo o tubos de ensayo que contienen el activador. Durante la incubación, se activa la vía clásica del complemento y se generan los CCT.

En el segundo paso, se diluyen los sueros activados en pocillos de microensayo o tubos de ensayo y se aplican, junto con los patrones del kit, directamente a una placa de microensayo. Los CCT presentes en las muestras activadas se unen a los anticuerpos monoclonales que recubren la superficie de los pocillos de microensayo.

En el tercer paso, la placa de microensayo de CCT se lava y se carga con un conjugado con peroxidasa de rábano, que se unirá a los CCT unidos. Después de lavarla, la microplaca de CCT se carga con un sustrato de enzima cromogénico. Después de la incubación, se añade un reactivo para detener la formación de color. Las absorbancias (valores  $A_{450}$ ) generadas con los controles, patrones del kit y muestras del ensayo se miden mediante una espectrofotometría. La intensidad del color de la mezcla de reacción es proporcional a la concentración de CCT presentes y a unidades de CH50. Utilizando la curva estándar del kit, los resultados del ensayo se expresan en equivalentes de unidades de CH50 por mililitro (CH50 U Eq/ml).

## REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

El kit de enzimoimmunoensayo de CH50 Eq contiene los siguientes elementos:

<b>A Standards</b>		
<b>B Patrones</b>	<b>Cód. A3719–A3723</b>	<b>1 cada x 1.5 ml</b>
<b>C</b>	Cada uno contiene suero humano con equivalentes a unidades de CH50 por ml asignados (U Eq/ml),	
<b>D</b>	estabilizadores de proteínas	
<b>E</b>		
<b>N Normal Controls</b>		
<b>Control normal</b>	<b>Cód. A3724</b>	<b>3 cada x 100 µl</b>
(liofilizado) Una vez reconstituido, cada uno contiene suero humano		
<b>L Low Controls</b>		
<b>Control bajo</b>	<b>Cód. A3725</b>	<b>3 cada x 100 µl</b>
(liofilizado) Una vez reconstituido, cada uno contiene suero humano		
<b>1 Microassay Plate</b>		
<b>Placa de microensayo</b>	<b>Cód. A3840</b>	<b>1 unidad</b>
96 pocillos con retén y soporte, en doce tiras de ocho pocillos recubiertas con un anticuerpo monoclonal de ratón en una bolsa de papel de aluminio resellable		
<b>2 Stop Solution</b>		
<b>Solución de parada</b>	<b>Cód. A9947</b>	<b>12 ml</b>
Contiene Ácido Clorhídrico 1N (4 %)		
<b>3 20X Wash Solution Concentrate</b>		
<b>Concentrado de solución de lavado 20X</b>	<b>Cód. A9957</b>	<b>2 cada x 50 ml</b>
Cada uno contiene solución salina tamponada de fosfato (PBS), Tween-20® al 1,0 % y ProClin® 300 al 0,035 %		
<b>4 Complement Specimen Diluent</b>		
<b>Diluyente de muestras de complemento</b>	<b>Cód. A3670</b>	<b>50 ml</b>
Contiene PBS, Tween-20 al 0,05 %,estabilizadores al 2,5 %, ProClin 300 al 0,035 %		
<b>5 TMB Substrate</b>		
<b>Sustrato TMB</b>	<b>Cód. 5059</b>	<b>12 ml</b>
Contiene 3,3', 5,5' tetramethylbenzidine (TMB) y Peróxido de Hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )		
<b>6 Conjugate</b>		
<b>Conjugado</b>	<b>Cód. A3726</b>	<b>7 ml</b>
Contiene anticuerpos anti-CCT (de cabra) conjugados en peroxidasa de rábano		
<b>7 Activator</b>		
<b>Activador</b>	<b>Cód. A3718</b>	<b>10 ml</b>
Contiene gammaglobulinas humanas y anticuerpos monoclonales murinos en solución salina tamponada de fosfato (PBS) con azida sódica al 0,02 %		
Tween-20® es una marca 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 ó 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 valores A<sub>450</sub> de densidad óptica de 0,0 a 3,0

- Agua desionizada o destilada
- Incubador o calentador de placas de microensayo (37 °C)
- Baño de agua (37 °C)

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Respete las precauciones universales al manipular el contenido de este kit y las muestras de los pacientes.<sup>4</sup>
- Use ropa protectora adecuada, guantes y protección ocular/ facial al manipular el contenido de este kit.
- Use los reactivos suministrados como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Guarde los reactivos de ensayo según lo indicado.
- No emplee las tiras recubiertas si la bolsa está pinchada.
- El ProClin 300 se utiliza como conservante. El contacto o la ingestión accidentales de tampones 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.
- El Solución de parada se considera corrosivo y puede provocar irritación en la piel. No lo ingiera. Evite el contacto con la piel, los ojos y la ropa. En caso de contacto, lave con agua. En caso de ingestión, solicite asistencia médica.
- Cada unidad donante utilizada en la preparación de las muestras y sueros de control de este producto fue analizada con un método aprobado por la FDA para detectar la presencia de anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH1 y VIH2) y contra el virus de la hepatitis C y antígenos de superficie de la hepatitis B. Debido a que ningún método puede garantizar totalmente que no hay agentes infecciosos, estos reactivos deben manipularse a un nivel de bioseguridad 2, como cualquier suero humano o muestra de sangre potencialmente infecciosos, según se recomienda en el manual de los Centers for Disease Control/National Institutes of Health "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2007.
- 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 (vea la sección *RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS*).
- Evite la contaminación microbiana o cruzada de las muestras, reactivos o materiales. Su contaminación puede llevar a la obtención de resultados incorrectos.
- Analice cada muestra por duplicado.
- No utilice un pocillo de microensayo para más de un ensayo.
- El uso de tiempos y temperaturas de incubación que no sean los indicados en la sección *PROCEDIMIENTO DE ENSAYO* puede dar resultados erróneos.
- El sustrato de TMB debe protegerse de la luz durante su almacenamiento e incubación. Evite el contacto con los ojos, la piel y la ropa. En caso de contacto, lave inmediatamente el área afectada con agua.
- 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.
- Utilice una botella para lavado o un dispositivo de llenado automático para lavar la placa (*PROCEDIMIENTO DE ENSAYO*, Paso 9). Para obtener los mejores resultados, no utilice una pipeta multicanal para lavar la placa de microensayo.
- Deseche los recipientes y el contenido no utilizado de acuerdo con la normativa internacional, nacional y local.

## CONSERVACIÓN

Conserve el kit no abierto a 2 °C o 8 °C. Una vez abierto, el concentrado de solución de lavado 20X puede guardarse a 2 °C o 30 °C.

Después de seleccionar los reactivos o materiales que se utilizarán en el ensayo, vuelva a guardar inmediatamente los reactivos no utilizados a las temperaturas de conservación adecuadas. Deje que los reactivos y los materiales para el ensayo se estabilicen a temperatura ambiente (20 °C o 27 °C) antes de su uso.

## INDICACIONES DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE REACTIVOS

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

El activador puede contener partículas. Esto es normal y no afecta el buen funcionamiento del ensayo.

## RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

*Utilice suero como muestra en este ensayo. El plasma no es aceptable.*

**Manipule y deseche todas las muestras utilizando las precauciones universales.**

Es fundamental recoger, procesar, almacenar y enviar las muestras de forma adecuada ya que las muestras mal manipuladas pueden activar el complemento y llevar a resultados erróneos.

Las muestras de suero deben recogerse utilizando técnicas asépticas y prepararse según las técnicas habituales para el análisis clínico en laboratorio. Las muestras pueden ser almacenadas hasta 2 horas a temperatura ambiente, hasta 4 horas en hielo, hasta 3 días a 4°C, y a -70 °C o menos para almacenamiento a largo plazo. Se recomienda no someter las muestras a más de seis ciclos de congelación/descongelación. Las muestras congeladas deben analizarse lo antes posible después de descongelarlas o guardarse en hielo (no más de cuatro horas) hasta su ensayo.

Las muestras deben guardarse en una gran cantidad de hielo seco para su transporte. Las muestras que llegan descongeladas al centro de ensayo pueden estar comprometidas. Después de recibirlas, las muestras pueden conservarse a -70 °C o a una temperatura inferior.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Tras retirar los reactivos y materiales necesarios, vuelva a guardar los elementos no utilizados a la temperatura correspondiente indicada (vea la sección *CONSERVACIÓN*). Deje que todos los reactivos y materiales para el ensayo se estabilicen a temperatura ambiente (20 °C o 27 °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 o 8 °C, es posible que se hayan formado cristales. Para disolver los cristales, caliente el frasco en un baño de agua de 37 °C o 50 °C hasta que todos los cristales se hayan disuelto y, a continuación, mézclelo bien. Prepare la solución de lavado 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 o 8 °C. En caso de decoloración o turbiedad, deseche el reactivo.

### 2. Selección de las tiras de microensayo

Determine la cantidad de pocillos requeridos para el ensayo. Se recomienda realizar el ensayo de los pocillos testigo, controles y patrones por duplicado. Retire el retén de la tira de la placa montada. Retire las tiras que no necesita y colóquelas en la bolsa de conservación. Vuelva a sellar la bolsa y guárdela a 2 °C o 8 °C. Fije las tiras que utilizará en el ensayo.

### 3. Dilución de muestras

**ATENCIÓN:** trate todas las muestras como si fueran potencialmente infecciosas. No utilice muestras inactivadas por calor o contaminadas ni muestras mal conservadas. Se requieren muestras de suero para este ensayo.

Las muestras de suero deben descongelarse rápidamente colocándolas brevemente en un baño de agua de 37 °C. Inmediatamente después de descongelarlas, coloque las muestras en hielo hasta el paso de activación (vea la sección *PROCEDIMIENTO DE ENSAYO*). No diluya las muestras de ensayo antes de la activación.

### 4. Preparación de los controles normal y bajo

Añada 100 µl de agua desionizada o destilada a un vial de control normal y a un vial de control bajo liofilizados. Mezcle brevemente para asegurar su reconstitución y deje reposar durante quince (15) minutos a temperatura ambiente. Vuelva a agitar en el vórtex y coloque en hielo hasta que esté listo para el paso de activación.

## PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

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

Vea las secciones *PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS* y *ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES* antes de continuar.

1. **Activación de muestras y controles.** Mezcle el activador, que contiene partículas de fácil suspensión, haciendo girar el frasco antes de usarlo. Hágalo girar varias veces durante este paso para asegurar la suspensión de las partículas. Añada 86 µl de activador a la cantidad adecuada de tubos de ensayo o pocillos de microensayo.\* A continuación, añada 14 µl de muestra de suero sin diluir, control normal o control bajo a los tubos de ensayo individuales o pocillos de microensayo que contienen el activador. Mezcle con cuidado. Cubra para reducir al mínimo la evaporación. Incube a 37 °C durante sesenta (60) minutos. (**PARA SU CONVENIENCIA:** si desea agrupar las muestras en lotes, después de la activación puede guardar las muestras activadas sin diluir a –20 °C o a una temperatura inferior hasta 14 días antes de continuar con los siguientes pasos.)

\* La cantidad de tubos de ensayo o pocillos de microensayo requeridos para la activación es igual a la cantidad de muestras de ensayo más dos (2) para la activación de los dos controles.

2. **Dilución de las muestras activadas y controles.** Después de la activación, diluya las muestras activadas y los controles activados en 1:200 con diluyente de muestras en pocillos de microensayo limpios no usados o en tubos de ensayo.

**NOTA:** El esquema de dilución recomendado es de 5 µl de muestra activada o control + 995 µl de diluyente de muestra.

3. Prepare las tiras de microensayo de la siguiente forma:

a. Rehidrate los pocillos de microensayo llenándolos con solución de lavado (250–300 µl/pocillo) utilizando una botella para lavado o un dispositivo automático.

b. Incube a temperatura ambiente (20 °C o 27 °C) durante dos minutos.

c. Elimine el líquido de cada pocillo.

d. Invierta la placa y golpéela con fuerza sobre papel absorbente varias veces para eliminar todo el líquido restante.

4. Añada 100 µl de diluyente de muestras a los pocillos duplicados que se utilizarán como pocillos testigo con el lector de placa.

5. Añada 100 µl de cada patrón listo para usar (A–E) a los pocillos duplicados. **Tenga en cuenta que los patrones ya se han diluido y están listos para usar.**

6. Añada 100 µl de los controles normal y bajo activados y diluidos a los pocillos duplicados.

7. Añada 100 µl de cada muestra diluida por duplicado a los pocillos de microensayo asignados.

8. Incube a temperatura ambiente (20 °C o 27 °C) durante 60 ± 1 minutos.

9. Lave los pocillos de microensayo como se indica a continuación: **NOTA: no se recomienda utilizar una pipeta multicanal para este paso.**

a. Después de la incubación del paso 8 (o del paso 12 a continuación), elimine el líquido de cada pocillo.

b. Utilizando una botella para lavado, un lavador de placas automático u otro dispositivo de lavado, llene cada pocillo con la solución de lavado (250–300 µl/pocillo).

c. Incube los pocillos durante 1 minuto a temperatura ambiente (20 °C o 27 °C).

- d. Elimine el líquido de cada pocillo.
  - e. Llene cada pocillo con solución de lavado (250–300 µl/pocillo).
  - f. Elimine el líquido de cada pocillo.
  - g. **Repita los pasos e–f cinco veces más.**
  - h. Después del séptimo ciclo de lavado, invierta la placa y golpéela con fuerza sobre papel absorbente varias veces para eliminar todo el líquido restante.
10. Utilizando una pipeta multicanal o de repetición, aplique 50 µl de conjugado en cada pocillo de ensayo lavado, incluyendo los pocillos testigo.
  11. Incube las tiras de microensayo a temperatura ambiente (20 °C o 27 °C) durante 60 ± 1 minutos.
  12. Lave los pocillos de microensayo después de la incubación de 60 minutos, tal como se describe en el paso 9.
  13. Inmediatamente después del procedimiento de lavado, aplique 100 µl de la solución de TMB sustrato a cada pocillo, incluyendo los pocillos testigo.
  14. Incube las tiras de microensayo a temperatura ambiente (20 °C o 27 °C) durante 15 ± 1 minutos.
  15. Añada 100 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.
  16. Determine el valor de absorbancia a 450 nm (valor  $A_{450}$ ) para cada pocillo de ensayo dentro de una hora después de añadir la solución de parada, realizando una corrección en blanco según el sistema espectrofotométrico en uso. No se requiere filtro de referencia.
  17. Deseche las muestras diluidas restantes, el activador, los controles y las tiras de microensayo usadas (vea la sección *ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES*). Conserve el soporte y el retén de la tira para su uso futuro.

## CONTROL DE CALIDAD

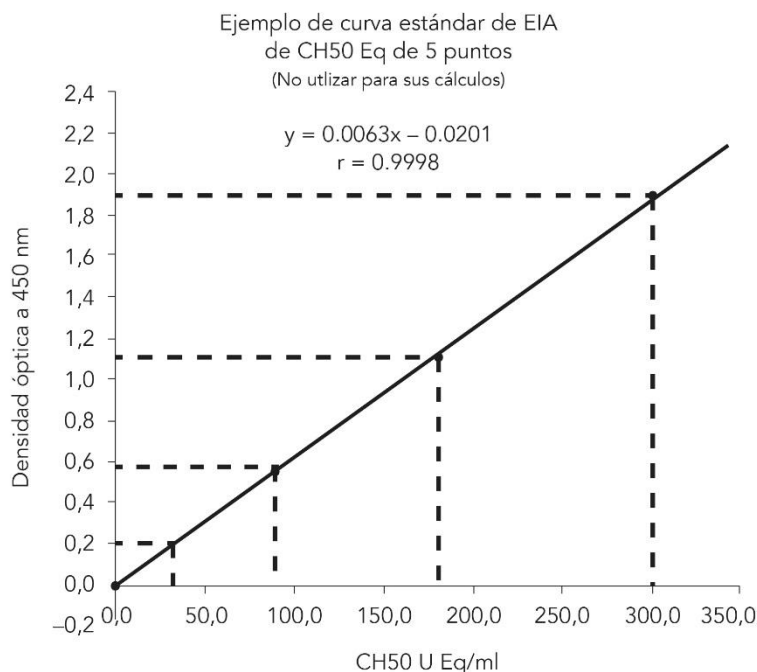
Según las buenas prácticas de laboratorio, se deben utilizar controles para garantizar que el ensayo se esté realizando correctamente. Para ello, se pueden usar los controles de nivel normal y bajo incluidos en cada kit CH50 Eq EIA. Estos controles se deberán evaluar al menos una vez para cada lote de muestras, es decir, con cada ejecución de activación. Cuando se usan según lo indicado, los controles deben mostrar valores equivalentes de unidades de CH50 dentro de los intervalos especificados en el certificado de análisis. Como estos controles se deben activar, diluir y analizar exactamente como una muestra típica, sirven tanto de control como de estándar de referencia para cada activación y ejecución de CH50 Eq EIA. Se podrán utilizar asimismo controles externos preparados por su laboratorio para ayudar a garantizar que el ensayo se esté realizando de manera adecuada.

Asimismo, el prospecto del producto requiere que la curva estándar generada con los patrones A–E del kit cumplan con estrictos requisitos de validación (vea la sección *INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS*). Los patrones deben analizarse por duplicado para cada ciclo de ensayo. Si el ensayo no cumple con estos requisitos, repítalo o póngase en contacto con el Servicio técnico de Quidel.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

**Uso de la curva estándar:** la curva estándar del enzoinmunoensayo de CH50 Eq se genera utilizando el valor  $A_{450}$  sustraído del testigo de cada patrón (en el eje Y) en función de la concentración asignada a 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.

**Figura 1**  
**Ejemplo de curva estándar**



**Cálculo del nivel de CH50 U Eq real en muestras del paciente:** los valores de las muestras se calculan a partir de la curva estándar utilizando análisis de regresión lineal. Para las muestras de ensayo activadas y diluidas en 1:200 antes del ensayo, el valor CH50 U Eq/ml puede leerse directamente de la curva estándar. Los valores (UEq/ml) de los controles normal y bajo también pueden leerse directamente de la curva estándar, ya que también se diluyeron en 1:200.

A fin de obtener determinaciones de CH50 precisas para muestras de ensayo que dan valores  $A_{450}$  superiores a los del patrón E del enzoinmunoensayo de CH50 Eq (o que dan valores  $A_{450}$  inferiores a los obtenidos con el patrón A), las muestras de ensayo pueden volver a analizarse a una dilución diferente para que sus nuevos valores  $A_{450}$  se encuentren dentro de estos límites. En todos los ensayos repetidos también deben analizarse los patrones y los controles.

Si una muestra se analiza a una dilución distinta de 1:200, el nivel de CH50 de la muestra se determina corrigiéndolo según la diferencia entre la dilución examinada y la dilución de 1:200 habitual. Por ejemplo, si una muestra se diluye a 1:100 en lugar de a 1:200 como es habitual y la curva de regresión lineal da una concentración de 100 CH50 U Eq/ml, el valor de CH50 U Eq/ml real de la muestra es de 50 (es decir, 100 CH50 U Eq/ml dividido por 2).

## Validación

Calcule el valor CH50 U Eq/ml para los controles normal y bajo. Determine también el coeficiente de correlación ( $r$ ) y la intersección Y ( $b$ ) de la curva lineal de ajuste óptimo derivada para los valores obtenidos con los patrones A–E. Para validar el ensayo, los valores  $r$ ,  $b$  y de control deben encontrarse dentro de los siguientes intervalos:

---

coeficiente de correlación ( $r$ ): > 0,96

intersección Y ( $b$ ): entre (-)0,090 y (+)0,068

pendiente ( $m$ ): entre 0,0033 y 0,0089

valores de controles normal y bajo: Dentro de los intervalos indicados en el certificado de análisis.

---



## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El enzoinmunoensayo de CH50 Eq de MicroVue se ha utilizado para analizar muestras recogidas como suero. Aún no se ha determinado el comportamiento clínico de las muestras de plasma preparadas con otros coagulantes.

## VALORES ESPERADOS

Se analizaron doscientas treinta y cuatro (234) muestras de suero normales y anormales con en enzoinmunoensayo de CH50 Eq de Quidel. El valor promedio obtenido con la población de muestra normal fue de  $133 \pm 54$  CH50 U Eq/ml. A modo de orientación, el valor de corte obtenido mediante la técnica de análisis ROC (características operativas del receptor)<sup>2</sup> con estas muestras de suero normales y anormales de suero fue de 70 CH50 U Eq/ml. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia normal.

Utilizando el enzoinmunoensayo de CH50 Eq de MicroVue, se analizaron doscientas veintiuna (221) muestras de pacientes en un laboratorio clínico de referencia importante de los Estados Unidos. Utilizando un valor de corte de 70 CH50 Eq U/ml y la técnica de análisis ROC, la exactitud general del enzoinmunoensayo de CH50 Eq, comparada con los resultados combinados de tres ensayos hemolíticos y un enzoinmunoensayo, fue superior al 97 %

**Utilizando mediciones tradicionales de comportamiento clínico, el enzoinmunoensayo de CH50 Eq de MicroVue también dio una exactitud clínica superior al 97 % con una sensibilidad del 93,2 % y una especificidad del 99,4 %.** Utilizando el método algorítmico de Bablok y Passing<sup>3</sup>, los valores de CH50 U Eq obtenidos con el enzoinmunoensayo de CH50 Eq de MicroVue mostraron una estrecha correlación con los valores de CH50 obtenidos con el ensayo hemolítico tradicional informado por el laboratorio clínico, con un nivel de significancia de  $p < 0,001$ .

## CARACTERÍSTICAS DE COMPORTAMIENTO

### Precisión

La precisión Intra-ensayo y Inter-ensayo fue determinada con 16 réplicas de 4 muestras de suero en 10 ciclos diferentes.

Muestra	CH50 (U Eq/ml)	Intra -ensayo <sup>1</sup>	Inter -ensayo <sup>2</sup>
		C.V. (%)	C.V. (%)
Suero	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 réplicas      <sup>2</sup>n = 10 ciclos

## ASISTENCIA

Para servicios fuera de los EE.UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Información adicional de Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores puede encontrarse en nuestra página web [www.quidel.com](http://www.quidel.com).

## REFERENCIAS

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 es una marca comercial de Quidel Corporation. Cualquier otra marca comercial que aparezca en este documento es propiedad de su respectivo dueño, y su uso en este documento no implica patrocinio ni respaldo de ningún producto o servicio.

**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](http://quidel.com)

**PIA018003ES00 (09/21)**

---

**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



ADVERTENCIA: Nocivo en caso  
de ingestión (oral)

---



Riesgo biológico

**IVD**

Para uso diagnóstico *in vitro*

---



Contiene una cantidad suficiente para  
96 determinaciones

**CONT**

Contenido / Contiene

---

**CONTROL**

Control

---