

Um imunoenensaio enzimático para medir a actividade total da via clássica do complemento no soro humano

Para diagnóstico *in vitro*

SUMÁRIO

Preparação do Reagent, Controlo, e da Amostra

- Diluir la Concentrado de Solução de Lavagem 1:20 com água desionizada
- Cada controlo deve ser reconstituído com 100 µl água desionizada (Deixar assentar durante 15 minutos. Colocar em agitador tipo vórtex y colocar em gelo.)

Procedimento de Ensaio

Continuamente mistura o activador rodando durante o uso

Colocar **86 µl** de Activador aos tubos de ensaio ou poços do microensaio

Adicionar **14 µl** de amostras e controlos aos los tubos de ensaio individuais ou poços do microensaio e misturar cuidadosamente

Tapar los tubos de ensaio individuais ou poços do microensaio e incubar **60 ± 1 minutos** a uma temperatura de 37 °C (conservar a uma temperatura de ≤ -20 °C ou inferior durante até 14 dias)

- Diluir as Amostras e os Controlos activados numa proporção de 1:200 em Diluente de Amostra, em poços do microensaio ou tubos de ensaio não utilizados
NOTA: O esquema de diluição recomendado é de 5 µl de amostra ativada ou controlo + 995 µl de Diluente de Amostra

Adicionar **~300 µl** de Solução de Lavagem a poços de teste

Incubar **2 minutos** a uma temperatura entre 20 °C e 27 °C

Remover o líquido de cada poço (Borrão seco)

Adicionar **100 µl** de diluente de amostra do complemento (branco), de cada Padrão pronto a utilizar, los Controlos activados y diluidos e de cada Amostrade activada e diluída aos poços de teste

Incubar **60 ± 1 minutos** a uma temperatura entre 20 °C e 27 °C

Lavar **7X** com la Solução de Lavagem (incubar a primeira lavagem 1 min)

Adicionar **50 µl** de Conjugado

Incubar **60 ± 1 minutos** a uma temperatura entre 20 °C e 27 °C

Lavar **7X** com la Solução de Lavagem (incubar a primeira lavagem 1 min)

Adicionar **100 µl** de solução de substrato

Incubar **15 ± 1 minutos** a uma temperatura entre 20 °C e 27 °C

Adicionar **100 µl** de Solução de paragem

Lê Densidade Óptica em **450 nm**

Analise os resultados do assay usando um ajuste linear da curva ($y = mx + b$)

O EIA CH50 Eq da MicroVue mede a actividade total da via clássica do complemento no soro humano e permite a detecção de uma deficiência de um ou mais dos componentes do complemento C1 a C9.

RESUMO E EXPLIÇÃO

A ligação do componente C1q do C1 aos complexos imunes desencadeia a via clássica do componente. Esta activação resulta numa cascata de reacções enzimáticas e não enzimáticas, culminando na formação de complexos terminais do complemento (TCC). Em condições normais, o nível de TCC que pode ser produzido no soro é uma expressão quantitativa da actividade total da via clássica do complemento no soro.

O método tradicional para medir a actividade total da via clássica do complemento no soro é o teste CH50.¹ Este teste é um ensaio lítico, que utiliza eritrócitos de ovino sensíveis a anticorpos (EA) como activador da via clássica do componente e várias diluições de soro de teste para determinar a quantidade necessária para possibilitar uma lise a 50%. A percentagem de hemólise é determinada espectrofotometricamente. O teste CH50 é uma medida indirecta de TCC, uma vez que os próprios TCC são directamente responsáveis pela hemólise que é medida.

O EIA CH50 Eq da MicroVue oferece uma medição directa da actividade total da via clássica do complemento no soro, quantificando a quantidade de TCC produzida em condições normais. O EIA CH50 Eq da MicroVue utiliza um anticorpo monoclonal para um neo-antígeno único para capturar o analito de TCC. Uma vez que tanto o EIA CH50 Eq e o teste CH50 dependem da produção de TCC e se correlacionam, os resultados do EIA CH50 Eq são expressos em equivalentes de unidades CH50 por milímetro.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O EIA CH50 Eq da MicroVue para a quantificação da actividade total da via clássica do complemento em soro humano envolve três procedimentos básicos: (1) activação do complemento; (2) diluição da amostra; e (3) ensaio para os complexos terminais do complemento (TCC).

Para activar a via clássica do complemento, são adicionados controlos e amostras de soro humano não diluídas aos poços do microensaio ou a tubos de ensaio que contêm o activador. Durante a incubação, a via clássica do complemento é desencadeada e os TCC produzidos.

No segundo passo, os soros activados são diluídos nos poços do microensaio ou tubos de ensaio e colocados, juntamente com os padrões do kit, directamente na placa do microensaio. Os TCC presentes nas amostras activadas fixam aos anticorpos monoclonais que revestem a superfície dos poços do microensaio. No terceiro passo, a placa de microensaio de TCC é lavada e enchida com um conjugado a HRP, que liga aos TCC fixados. Após a lavagem, a microplaca de TCC é enchida com um substrato cromogénico de enzima. Após a incubação, é adicionado um reagente para parar o desenvolvimento da cor. As absorvâncias (valores A_{450}) produzidas com os controlos, padrões do kit e amostras de teste são espectrofotometricamente medidas. A intensidade da cor da mistura de reacção é proporcional à concentração de TCC presente e às unidades CH50. Utilizando a curva padrão do kit, os resultados do ensaio são expressos em equivalentes de unidades CH50 por milímetro (Eq de U CH50/ml).

REAGENTES E MATERIAIS FORNECIDOS

O kit EIA CH50 Eq contém o seguinte:

- A Standards**
- B Padrões** **Referências A3719 – A3723** **1 cada x 1.5 ml**
- C** Cada um contém soro humano com equivalentes de unidades CH50 atribuídos por ml (Eq/ml U),
- D** estabilizadores de proteínas
- E**

N	Normal Controls		
	Controlo normal	Referência A3724	3 cada x 100 µl
	(liofilizados) Quando reconstituídos, cada um contém soro humano		
L	Low Controls		
	Controlo baixo	Referência A3725	3 cada x 100 µl
	(liofilizados) Quando reconstituídos, cada um contém soro humano		
1	Microassay Plate		
	Placa de microensaio	Referência A3840	1 de cada
	96 poços com retentor e suporte composto por 12 tiras de oito poços revestidos com anticorpo monoclonal de ratinho numa bolsa de papel de alumínio com fecho reutilizável		
2	Stop Solution		
	Solução de paragem	Referência A9947	12 ml
	Contém 1N (4%) ácido clorídrico		
3	20X Wash Solution Concentrate		
	Concentrado de solução de lavagem 20X	Referência A9957	2 cada x 50 ml
	Cada uma contém solução tampão salina concentrada de fosfato (PBS), 1,0% de Tween-20® e 0,035% de Proclin® 300		
4	Complement Specimen Diluent		
	Diluyente de amostra do complemento	Referência A3670	50 ml
	Contém PBS, 0,05% de Tween-20, 2,5% de estabilizadores de proteínas e 0,035% de Proclin 300		
5	TMB Substrate		
	Substrato TMB	Referência 5059	12 ml
	Contém 3,3',5,5' tetramethylbenzidine (TMB) e peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)		
6	Conjugate		
	Conjugado	Referência A3726	7 ml
	Contém anticorpos (de caprinos) conjugados a peroxidase de rábano para TCC		
7	Activator		
	Activador	Referência A3718	10 ml
	Contém gamaglobulinas humanas e anticorpos monoclonais murínicos em solução tampão salina concentrada de fosfato (PBS) com 0.02% azida de sódio		
	<small>Tween-20® é uma marca comercial da ICI Americas Inc.</small>		
	<small>Proclin® é uma marca registada da Rohm and Haas Company.</small>		

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Cronómetro (de 60 minutos)
- Calculadora ou outro método computacional para validar o ensaio
- Placas de microensaio limpas, não utilizadas, e/ou tubos de ensaio e suportes
- Recipiente para diluição do tampão de lavagem
- Frasco de lavagem ou outro sistema de lavagem para o imunoensaio
- Pipetas multicanal (8 ou 12 canais) ajustáveis ou micropipetas de repetição (opcional)
- Pipetas limpas, 1 ml, 5 ml e 10 ml
- Micropipetas e pontas de pipetas
- Leitor de placas com capacidade de efectuar leituras A₄₅₀ da densidade óptica entre 0,0 e 3,0
- Água desionizada ou destilada
- Incubador ou calefactor de placas do microensaio (37°C)
- Banho-maria (37°C)

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Para diagnóstico *in vitro*.
- Seguir as precauções universais ao manusear o conteúdo deste kit e quaisquer amostras dos doentes.⁴

- Utilizar vestuário de protecção, luvas e protecção ocular/facial adequados ao manusear o conteúdo deste kit.
- Utilizar os reagentes fornecidos como uma unidade inteira antes da data de validade inscrita na etiqueta da embalagem.
- Conservar os reagentes do ensaio conforme indicado.
- Não utilizar as tiras revestidas se a bolsa estiver perfurada.
- O ProClin 300 é utilizado como conservante. O contacto ou ingestão acidental de tampões ou reagentes contendo ProClin pode provocar irritação na pele, nos olhos ou na boca. Seguir as boas práticas laboratoriais para reduzir a exposição. Procurar assistência médica caso se verifiquem estes sintomas.
- O solução de paragem é considerado corrosivo e pode provocar irritação na pele. Não ingerir. Evitar o contacto com a pele, os olhos ou o vestuário. Se houver contacto, lavar com água. Em caso de ingestão, consultar um médico.
- Cada unidade dadora utilizada na preparação de padrões e soros de controlo deste produto foi testada (de acordo com os métodos aprovados pela FDA) em relação à presença do anticorpo do vírus da imunodeficiência humana (VIH1 e VIH2) e vírus da hepatite C, bem como ao antígeno de superfície da hepatite B. Uma vez que não existe qualquer método de teste que possa garantir a total ausência de agentes infecciosos, estes reagentes devem ser manuseados ao Nível 2 da Biosegurança, tal como é recomendado para soro humano ou amostras de sangue potencialmente infecciosos no manual dos Centros de Controlo e Prevenção de Doenças/Instituto Nacional de Saúde "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2007.
- Para assegurar o fornecimento atempado dos reagentes, recomenda-se a utilização de pipetas multicanal ou de repetição.
- Para uma medição precisa de amostras, adicionar as amostras e os padrões com precisão. Utilizar a pipeta com cuidado recorrendo apenas a equipamento calibrado.
- A colheita e conservação correctas das amostras de teste são essenciais para a obtenção de resultados precisos (ver *COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS*).
- Evitar a contaminação microbiana ou contaminação cruzada de amostras, reagentes ou materiais. Poderão obter-se resultados incorrectos em caso de contaminação.
- Analisar cada amostra em duplicado.
- Não usar um poço de microensaio para mais do que um teste.
- A utilização de tempos ou temperaturas de incubação diferentes dos especificados na secção *PROCEDIMENTO DE ENSAIO* pode originar resultados erróneos.
- O substrato TMB deve ser protegido da luz durante o armazenamento e incubação. Evitar o contacto com os olhos, a pele e o vestuário. Em caso de contacto, lavar imediatamente a área afectada com água.
- Não permitir que os poços do microensaio sequem depois de iniciar o ensaio.
- Ao adicionar ou aspirar líquidos dos poços do microensaio, não raspar nem tocar no fundo dos poços.
- As amostras hiperlipémicas, inactivadas pelo calor ou contaminadas podem produzir resultados erróneos.
- Para evitar a formação de aerossóis durante a lavagem, utilizar um aparelho para aspirar o fluido da lavagem para um frasco com lixívia doméstica.
- Deve ser utilizado um frasco de lavagem ou dispositivo de lavagem automático para lavar a placa (*PROCEDIMENTO DE ENSAIO*, passo 9). Para melhores resultados, não utilizar uma pipeta multicanal para lavar a placa do microensaio.
- Eliminar os recipientes e o conteúdo não utilizado de acordo com os regulamentos locais e nacionais.

ARMAZENAMENTO

Conservar o kit não aberto a uma temperatura entre 2°C e 8°C. Depois de aberto, o concentrado de solução de lavagem 20X pode ser conservado entre 2°C e 30°C.

Depois de seleccionar os reagentes ou os materiais a utilizar no ensaio, permitir que os reagentes não utilizados retomem imediatamente as devidas temperaturas de conservação. Permitir que os reagentes e os materiais atinjam a temperatura ambiente (20°C e 27°C) antes de os utilizar.

INDICAÇÕES DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

A turvação ou descoloração da solução de lavagem diluída indica uma deterioração do reagente. Se isto acontecer, eliminar a solução.

O activador pode conter partículas. Isto é normal e não afecta o desempenho do ensaio.

COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

Utilizar soro como amostra neste ensaio. O plasma não é aceitável.

Manusear e eliminar todas as amostras, seguindo as precauções universais.

A colheita, o processamento, a conservação e transporte correctos das amostras são essenciais, uma vez que o complemento pode ser activado em amostras inadequadamente manuseadas. Isto poderá dar origem a resultados erróneos.

As amostras de soro devem ser colhidas assepticamente e preparadas utilizando técnicas padrão na realização de testes em laboratórios clínicos. As amostras podem ser conservadas até 2 horas à temperatura ambiente; até 4 horas em gelo, até 3 dias a 4°C, e durante um período mais alargado de tempo a -70°C ou inferior. Não se deve submeter as amostras a mais de seis ciclos de congelação/descongelação. As amostras congeladas devem ser testadas o mais rapidamente possível depois de serem descongeladas ou conservadas em gelo seco (por um período não superior a quatro horas) antes da realização do ensaio.

Para o transporte, as amostras devem ser acondicionadas em bastante gelo seco. As amostras que chegarem descongeladas ao local de realização dos testes poderão não estar em condições. Após a recepção de uma remessa, as amostras devem ser conservadas a uma temperatura de -70°C ou inferior.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Depois de retirar os reagentes e materiais necessários, voltar a colocar os materiais não utilizados nas respectivas temperaturas de conservação (ver *ARMAZENAMENTO*). Permitir que todos os reagentes e materiais para o ensaio atinjam a temperatura ambiente (20°C e 27°C) antes de serem utilizados.

1. Solução de lavagem

Misturar concentrado de solução de lavagem 20X, invertendo o frasco várias vezes. Se o concentrado de solução de lavagem 20X tiver sido conservado entre 2°C e 8°C, poderão ter-se formado cristais. Para os dissolver, aquecer o frasco em banho-maria entre 37 e 50°C até à dissolução completa de todos os cristais e, depois, misturar bem o conteúdo. Preparar a solução de lavagem, diluindo todo o conteúdo de um dos frascos de concentrado de solução de lavagem 20X num litro de água destilada ou desionizada. Misturar bem. A solução de lavagem mantém-se estável durante 30 dias, quando conservada num recipiente limpo a uma temperatura entre 2°C e 8°C. Caso ocorra descoloração ou turvação, eliminar o reagente.

2. Selecção das tiras do microensaio

Determinar o número de poços necessário para o ensaio. Os poços em branco, controlos e padrões devem ser testados em duplicado. Retirar o retentor de tiras da placa montada. Retirar as tiras não necessárias e colocá-las na bolsa de conservação, voltar a selar a bolsa e conservar entre 2°C e 8°C. Guardar as tiras a utilizar no ensaio em local seguro.

3. Diluição de amostras

ATENÇÃO: tratar todas as amostras como potencialmente infecciosas. Não utilizar amostras inactivadas pelo calor, contaminadas ou que tenham sido incorrectamente conservadas. São necessárias amostras de soro para este ensaio.

As amostras de soro devem ser descongeladas rapidamente, colocando-as brevemente em banho-maria a uma temperatura de 37°C. Imediatamente após a descongelação, colocar as amostras em gelo até ao passo de activação (ver *PROCEDIMENTO DE ENSAIO*). Não diluir as amostras de teste antes da activação.

4. Preparação dos controlos normal e baixo

Adicionar a cada frasco de controlo normal e baixo liofilizados 100 µl de água desionizada ou destilada. Misturar brevemente para assegurar a reconstituição e deixar assentar durante quinze (15) minutos à temperatura ambiente. Colocar em agitador tipo vórtex e colocar em gelo até estar pronto para o passo de activação.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Ler o folheto informativo completo antes de iniciar o ensaio.

Ver *PREPARAÇÃO DOS REAGENTES* e *ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES* antes de continuar.

1. **Activação de amostras e controlos.** Misturar o activador, que contém partículas prontamente suspensivas, agitando o frasco antes de utilizar. Agitar frequentemente durante este passo para assegurar a suspensão das partículas. Colocar 86 µl de activador no devido número de tubos de ensaio ou poços do microensaio.* A seguir, adicionar 14 µl de amostra de soro não diluída, controlo normal ou controlo baixo nos tubos de ensaio individuais ou poços do microensaio contendo activador. Misturar cuidadosamente. Tapar para minimizar a evaporação. Incubar a uma temperatura de 37°C durante sessenta (60) minutos. (**PARA UMA MAIOR CONVENIÊNCIA:** caso se pretenda colocar as amostras em lotes, é possível, após a activação, conservar as amostras activadas, não diluídas, a uma temperatura de -20°C ou inferior durante até 14 dias, antes de avançar para os passos seguintes.)
* O número de tubos de ensaio ou poços do microensaio necessário para a activação equivale ao número de amostras de teste mais dois (2) adicionais para a activação dos dois controlos.

2. **Diluição de amostras e controlos activados.** Após a activação, diluir as amostras e os controlos activados numa proporção de 1:200 em diluente de amostra, em poços do microensaio ou tubos de ensaio não utilizados.

NOTA: O esquema de diluição recomendado é de 5 µl de amostra ativada ou controlo + 995 µl de Diluente de Amostra.

3. Preparar as tiras do microensaio do modo a seguir indicado:
 - a. Rehidratar os poços do microensaio, enchendo-os com solução de lavagem (250–300 µl/poço), utilizando um frasco de lavagem ou um dispositivo de enchimento automático.
 - b. Incubar à temperatura ambiente (20°C e 27°C) durante dois minutos.
 - c. Remover o líquido de cada poço.
 - d. Inverter a placa e bater firme e repetidamente em papel absorvente para remover restos de líquido.
4. Adicionar 100 µl de diluente de amostra aos poços duplicados que serão utilizados para colocar o leitor de placas em branco.
5. Adicionar 100 µl de cada padrão (A–E) pronto a utilizar a poços duplicados. **Ter em atenção que os padrões já foram diluídos e estão prontos a ser utilizados.**
6. Adicionar 100 µl dos controlos normal e baixo activados e diluídos aos poços duplicados.
7. Adicionar 100 µl de cada amostra diluída em duplicado aos respectivos poços atribuídos do microensaio.
8. Incubar à temperatura ambiente (20°C e 27°C) durante 60 ± 1 minutos.
9. Lavar os poços do microensaio do modo a seguir indicado. **NOTA: não se recomenda a utilização de uma pipeta multicanal para este passo.**
 - a. Após a incubação no passo 8 (ou no passo 12 acima) remover o líquido de cada poço.
 - b. Utilizando um frasco de lavagem, um lavador automático de placas ou outro dispositivo de lavagem, encher cada poço com solução de lavagem (250–300 µl/poço).
 - c. Incubar os poços durante 1 minutos à temperatura ambiente (20°C e 27°C).
 - d. Remover o líquido de cada poço.
 - e. Encher cada poço com solução de lavagem (250–300 µl/poço).
 - f. Remover o líquido de cada poço.
 - g. **Repetir os passos e-f mais cinco vezes.**
 - h. Após o sétimo ciclo de lavagem, inverter a placa e bater firme e repetidamente em papel absorvente para remover restos de fluido.

10. Utilizando uma pipeta multicanal ou de repetição, colocar 50 µl de conjugado em cada poço de teste lavado, assim como no(s) poço(s) em branco.
11. Incubar as tiras de microensaio à temperatura ambiente (20°C e 27°C) durante 60 ± 1 minutos.
12. Lavar os poços do microensaio após o período de incubação de 60 minutos, tal como é descrito no passo 9.
13. Imediatamente após o procedimento de lavagem, colocar 100 µl da solução de substrato TMB em cada poço, incluindo o(s) poço(s) em branco. .
14. Incubar as tiras de microensaio à temperatura ambiente (20°C e 27°C) durante 15 ± 1 minutos.
15. Adicionar 100 µl de solução de paragem a cada poço para parar a reacção enzimática. A solução de paragem deve ser adicionada aos poços, seguindo a mesma ordem e o mesmo ritmo utilizados para a solução de substrato. Bater levemente na placa para dispersar uniformemente o desenvolvimento da cor.
16. Determinar a leitura da absorvância a 450 nm (valor A_{450}) para cada poço de teste, uma hora após a adição da solução de paragem, fazendo as necessárias correcções aos itens em branco. Não é necessário qualquer filtro de referência.
17. Eliminar as restantes amostras, activador e controlos diluídos, bem como as tiras do microensaio utilizadas (ver *ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES*). Guardar o suporte e retentor de tiras para futura utilização.

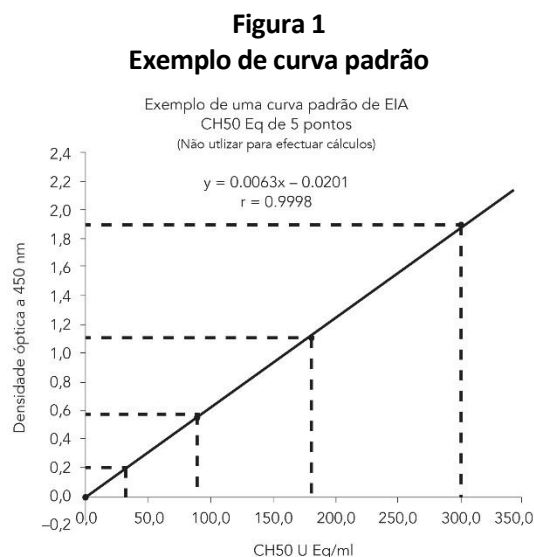
CONTROLO DE QUALIDADE

A boa prática de laboratório recomenda o uso de controlos para assegurar que o ensaio está a funcionar devidamente. Cada kit CH50 Eq EIA contém os controlos Normal e Baixo que podem ser utilizados para esta finalidade. Estes controlos devem ser testados pelo menos uma vez para cada lote de espécimes, ou seja, para cada execução de ativação individual. Os controlos, quando utilizados de acordo com as instruções, deverão fornecer valores equivalentes à unidade CH50 dentro dos intervalos especificados no certificado de análise. Uma vez que estes controlos se destinam a ser ativados, diluídos e testados exatamente com um espécime normal, servem como controlos e normas de referência para cada ativação e execução do CH50 Eq EIA. Também podem ser utilizados controlos externos, preparados pelo seu laboratório, para ajudar a garantir que o ensaio está a funcionar devidamente.

Além disso, o folheto do produto requer que a curva padrão gerada com os padrões A-E do kit cumpra os rigorosos requisitos de validação (ver *INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS*). Os padrões devem ser testados em duplicado para cada passo do ensaio. Se o ensaio não cumprir estes requisitos, repetir o ensaio ou contactar a assistência técnica da Quidel.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Utilização da curva padrão: a curva padrão para o EIA de CH50 Eq é gerada utilizando os valores A_{450} com subtração dos valores em branco para cada padrão (no eixo y) e a concentração atribuída a cada padrão (ao longo do eixo x). A curva padrão deve cumprir os requisitos de validação. A maior parte dos computadores e calculadoras são capazes de realizar este cálculo. É apresentado um exemplo de uma curva padrão típica na figura 1.



Cálculo do nível actual de Eq de U CH50 em amostras de doentes: os valores das amostras são calculados a partir da curva padrão, utilizando a análise de regressão linear. Para as amostras de teste activadas e diluídas numa proporção de 1:200 antes de serem testadas, os valores Eq/ml de U CH50 podem ser directamente lidos da curva padrão. Os valores (Eq/ml U) dos controlos normal e baixo podem também ser directamente lidos da curva padrão, uma vez que também foram diluídos numa proporção de 1:200.

Para se obterem determinações de CH50 precisas para as amostras de teste que apresentam valores A_{450} superiores aos do padrão E de CH50 Eq (ou que apresentam valores A_{450} inferiores aos obtidos com o padrão A), as amostras de teste devem ser novamente submetidas a ensaio com uma diluição diferente, de modo a que os novos valores A_{450} fiquem dentro destes limites. Em todos os ensaios repetidos, os padrões e controlos devem também ser novamente testados.

Se uma amostra for processada no ensaio com uma diluição de 200 vezes, o nível de CH50 da amostra é determinado, corrigindo-se a diferença entre a diluição examinada e a diluição normal de 200 vezes. Por exemplo, se uma amostra for diluída 100 vezes em vez das normais 200 vezes, e a curva de regressão linear apresentar uma concentração Eq/ml de 100 U CH50, então os valores Eq/ml de U CH50 na amostra são 50 (ou seja, os valores Eq/ml de 100 U CH50 divididos por 2).

Validação

Calcular os valores Eq/ml de U CH50 para os controlos normal e baixo. Determinar também o coeficiente de correlação (r) e a intercepção y (b) da curva linear de melhor ajustamento, obtida para os padrões A–E. Para validar o ensaio, o r, b, e os valores dos controlos devem estar dentro dos limites a seguir indicados.

Coeficiente de correlação (r): > 0,96

intercepção y (b): (–) 0,090 a (+) 0,068

inclinação (m): 0,0033 a 0,0089

Valores dos controlos normal e baixo: Dentro dos intervalos indicados no certificado de análise.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O EIA de CH50 Eq da MicroVue tem sido utilizado para testar amostras colhidas como soro. O desempenho clínico das amostras de plasma preparadas com anticoagulantes diferentes não foi determinado.

VALORES ESPERADOS

Foram testadas duzentas e trinta e quatro (234) amostras de soro normal e anormal no EIA de CH50 Eq, na Quidel. O valor médio obtido com a população de amostras normais foi de 133 ± 54 Eq/ml de U CH50. Para fins de orientação, o valor de “cut-off” obtido utilizando a análise ROC (característica operacional do receptor)² com estas amostras de soro normal e anormal foi de 70 Eq/ml de U CH50. Cada laboratório deve definir os seus próprios limites normais.

Utilizando o EIA de CH50 Eq da MicroVue, foram testadas duzentas e vinte e uma (221) amostras de doentes num grande laboratório de referência clínica nos Estados Unidos. Empregando o valor de “cut-off” de 70 Eq/ml de U CH50 e a análise ROC, a precisão geral do EIA de CH50 Eq, quando comparada aos resultados combinados de três ensaios hemolíticos e um baseado em EIA, era superior a 97%.

Utilizando as medições tradicionais de desempenho clínico, o EIA de CH50 Eq da MicroVue também apresentou uma precisão clínica superior a 97% com uma sensibilidade de 93,2% e uma especificidade de 99,4%. Utilizando o método algorítmico Bablok Passing³, os valores Eq de U CH50 obtidos com o EIA de CH50 Eq da MicroVue correlacionam-se intimamente com os valores de CH50 obtidos através do ensaio hemolítico tradicional revelados pelo laboratório clínico, atribuindo um nível de significância de $p < 0,001$.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Precisão

A precisão intra e entre ensaios foi determinada através da análise a 16 réplicas de 4 amostras de soro em 10 ensaios diferentes.

Amostra	CH50 (U Eq/ml)	Intra-ensaios ¹ C.V. (%)	Inter-ensaios ² C.V. (%)
Soro	150,4	3,2	6,0
	59,96	4,5	5,4
	98,84	3,6	8,7
	48,86	3,9	6,2

¹n = 16 réplicas ²n = 10 ensaios

ASSISTÊNCIA

Para serviços fora dos EUA, contactar o distribuidor local. A informações adicionais sobre Quidel, nossos produtos, e nossos distribuidores pode ser encontrada em nosso web site em quidel.com.

BIBLIOGRAFIA

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 é uma marca comercial registada da Quidel Corporation. Quaisquer outras marcas comerciais neste documento são propriedade dos respetivos detentores e a sua utilização no presente documento não implica qualquer tipo de patrocínio ou endosso de produtos ou serviços.

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

PIA018003PT00 (09/21)

REF

Número de catálogo



Marca CE de conformidade

EC REP

Representante autorizado na Comunidade Europeia

LOT

Número do lote



Utilizar até



Fabricante



Limitação de temperatura



Utilização prevista



Consulte as instruções e-rotulagem de utilização



ADVISÓ: Nocivo por ingestão (oral)



Risco biológico

IVD

Para utilização em diagnóstico *In Vitro*



Contém o suficiente para 96 determinações

CONT

Conteúdo / Contem

CONTROL

Controlo
