



QUIDEL

# MicroVue™ Complement

## Bb Plus Fragment EIA

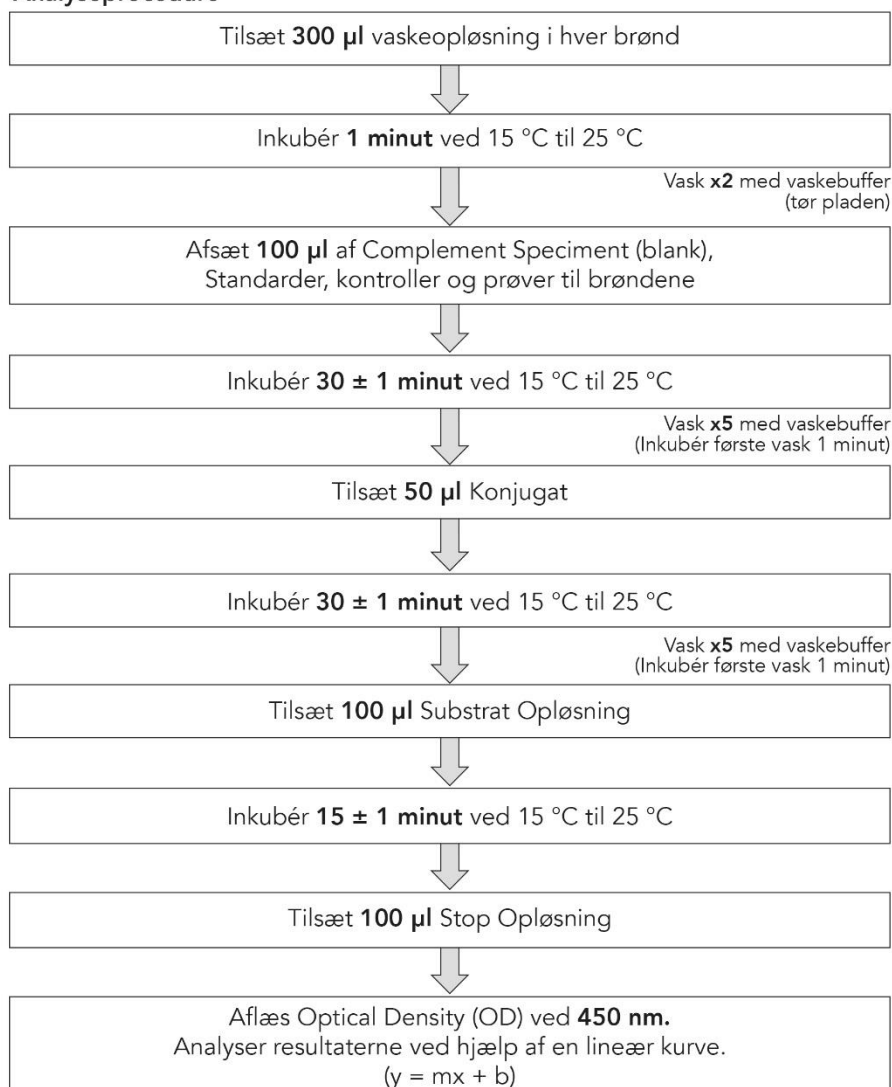
Et immunoassay til kvantitering af Bb fragmentet af Factor B, en indikator for aktivering af den Alternative komplementvej, i humant plasma og serum

### OPSUMMERING

#### Reagenser , standarder , kontroller og prøve forberedelse

- Fortynd Wash buffer Concentrate **1:20** med destilleret vand
- Rekonstituer hver standard og kontrol med **1,0 ml** af Hydrating Reagent (lad stå 15 minutter og miks forsigtig inden brug)
- Fortynd plasma prøver **1:10** med Complement Speciment (f.eks. 50 µl + 450 µl) (Sættes til brøndene indenfor 30 minutter)
- Fortynd serum prøver **1:20** med Complement Speciment (f.eks. 25 µl + 475 µl) (Sættes til brøndene indenfor 30 minutter)

#### Analyseprocedure





## ANVENDELSES OMRÅDE

The MicroVue Bb Plus Enzym Immunoassay Kit bestemmer mængden af komplement fragmentet Bb, et aktiverings fragment af Factor B fra den alternative komplementvej, i human plasma eller serum. Aflæsning af Bb i human plasma eller serum giver dokumentation for at den alternative vej er involveret. Aflæsning af den aktiverede alternative vej hjælper til diagnosticering af flere nyre sygdomme f.eks kronisk glomerulonephritis, lupus nephritis så vel som flere hud sygdomme f.eks dermatitis herpetiformis og pemphigus vulgaris. Andre sygdomme hvor aktivering af den alternative komplementvej er observeret inkludere rheumatoid arthritis, sickle cell anemia og gram-negative bakterielle infektioner.

## OVERSIGT OG BESKRIVELSE AF TESTEN

Den alternative komplement vej giver naturlig beskyttelse mod mikrobielle agens ved fravær af specifikke antistoffer.<sup>1-5</sup> Aktivering af denne komplement vej kan udløses af mange substanser inklusiv mikrobielle polysaccharider eller lipider, gramnegative bakteriel lipopolysaccharider og overflade determinanter præsenteret på visse vira, parasitter, viral inficerede mammalian celler og cancer celler. I autoimmune sygdomme kan aktivering af den alternative komplement kaskade bidrage direkte til vævs ødelæggelse.

En central vigtig reaktion der sker under aktivering af den alternative vej er konvertering af 93 Kd Factor B zymogen til et aktivt proteolytisk enzym. Dette sker i to step. Under første reaktion former Factor B et magnesium-afhængig kompleks med C3(H<sub>2</sub>O) eller C3b.<sup>4</sup> C3(H<sub>2</sub>O),B komplekset formes kun i væske-fase mens C3b,B komplekset kan dannes enten i væske-fase eller på en overflade.<sup>1-4</sup> Factor B, som er tilstede i C3(H<sub>2</sub>O),B eller C3b,B komplekset, bliver kløvet til Ba (33 Kd) og Bb (60 Kd) fragmenter i det andet step ved hjælp af enzymet Faktor D i den alternative vej.<sup>1-4</sup> Det deraf følgende C3b,Bb bimolekylære kompleks er C3 konvertase enzym i den alternative aktiverings vej. Bb subunit er den katalytiske aktive del af komplekset som er i stand til at kløve C3 til C3a og C3b fragmenter.<sup>1-4,6</sup> De øvrige C3b fragmenter der er produceret på denne måde kan danne C3b,Bb,C3b trimolekylær kompleks som er C5 konvertase enzym fra den alternative vej. Denne C5 konvertase er i stand til at kløve C5 til C5a og C5b fragmenter.<sup>1-4,6</sup>

C3 og C5 konvertaser fra den alternative aktiveringsvej kan stabiliseres af Factor P (også kaldet Properdin) en komponent fra den alternative vej der normalt er til stede i humant plasma eller serum,<sup>1-4</sup> eller af C3 nephritic factor, et autoantistof der produceres i nogle patienter der oplever omfattende aktivering af den alternative vej.<sup>5</sup> C3 og C5 konvertaser fra den alternative vej kan adskilles og derved inaktiveres ved spontan henfald<sup>7</sup> eller ved binding af Factor H eller Complement Receptor 1 (CR1).<sup>4,8</sup> Bb fragmentet, der er adskilt fra hver konvertase beholder nogen biologisk aktivitet, f.eks. tilbageholdelse af funktionel hæmolytisk aktivitet,<sup>4,9</sup> evnen til at inducere macrophag-udspredelse<sup>10</sup> og plasminogen aktivering.<sup>11</sup>

Selvom den alternative aktiveringsvej menes at foregå primært ved fravær af specifikt antistof, opstår mange situationer, i hvilken den alternative aktiveringsvej vil ske som et resultat af aktivering af den klassiske aktiveringsvej. For eksempel kan immunkomplekser der er til stede i patienter med autoimmune sygdomme udløse den klassiske aktiveringsvej med det resultat at der produceres C3b fragmenter. Som beskrevet herover er disse C3b molekyler i stand til at binde Factor B og initierer kløvning til Ba og Bb fragmenter. Således kan den alternative aktiveringsvej optræde i antistof medieret autoimmune tilstande og kan bidrage signifikant til forstærket komplement aktivering og deraf følgende vævs destruktion.

Ved aflæsning af Factor B kløvnings produkter i prøver udtaget på sygdomstidspunktet, kan man estimere omfanget af den alternative aktiveringsvej. MicroVue Bb Plus EIA giver en simple, hurtig, ikke-radioaktiv, høj specifik og kvantitativ procedure til aflæsning af Factor B aktivering. Det er ideelt til undersøgelse af rolle eller status af den alternative komplement aktiveringsvej i adskillig forskning, klinisk baggrund og for monitorering af generering af Bb *in vitro*.

## PROCEDURE PRINCIP

MicroVue Bb Plus Enzym Immunoassay til kvantitering af Bb i human serum, plasma eller andre prøver er en tretrins procedure der anvender (1) en microassay plade coatet med et musse monoclonalt antistof der binder specifik til human Bb, (2) et HRP-konjugeret murint anti-human Bb, og (3) et kromogent substrat. I første step tilsættes Standarder, Kontroller og prøvemateriale til brøndene præcoatede med et specifikt anti-Bb monoclonalt antistof. Bb, men ikke Factor B eller andre komplement aktiverings produkter der er til stede i Standarder, Kontroller eller prøver, vil binde sig til det immobiliserede anti-Bb monoclonalt antistof. Efter inkubation fjerner et vaskestep ubundet materiale.

I andet step tilsættes horseradish peroxidase (HRP)-konjugeret murint anti-Bb antistof til hver brønd. Det enzym konjugerede anti-Bb binder til Bb bundet i brøndene. Efter inkubation fjernes overskydende ubundet konjugat ved en vaskeprocedure.

I tredje step tilsættes et farvet enzym substrat til hver brønd. Det bundne HRP-konjugat reagerer med substratet og danner en blå farve. Efter inkubation stoppes enzym reaktionen kemisk, farven skifter til gul og farve intensiteten aflæses spektrofotometrisk ved 450 nm. Farve intensiteten er proportional med koncentrationen af Bb tilstede i prøverne, Standarder og Kontroller.

## MEDFØLGENDE REAGENSER OG MATERIALER

### 96 Assay for Bb fragment af Factor B

MicroVue Bb Plus Enzym Immunoassay kit indeholder følgende:

<b>A Bb Plus Standarder</b>	<b>Del A9948-A9952</b>	<b>1 ml hver</b>
<b>B</b> (frysetørret) hver indeholder en kendt koncentration af Bb i human serum fortyndet i PBS, protein		
<b>C</b> stabilisatorer, 0,035% ProClin® 300		
<b>D</b>		
<b>E</b>		
<b>L Bb Plus Lav Kontroller</b>	<b>Del A9953</b>	<b>1 ml</b>
(frysetørret) Indeholder en kendt koncentration af Bb i human serum fortyndet i PBS, protein stabilisatorer, 0,035% ProClin 300		
<b>H Bb Plus Høje Kontroller</b>	<b>Del A9955</b>	<b>1 ml</b>
(frysetørret) Indeholder en kendt koncentration af Bb i human serum fortyndet i PBS, protein stabilisatorer, 0,035% ProClin 300		
<b>1 Microassay Plade</b>	<b>Del A9559</b>	<b>12 x 8 brønde</b>
12 otte-brønde strips coatet med et oprenset monoclonalt muse- antistof specifik for human Bb i en folie pose der kan genlukkes		
<b>2 Stopopløsning</b>	<b>Del A9947</b>	<b>12 ml</b>
Indeholder 1N Syre-Hydrochloric		
<b>3 20X Wash Solution Koncentrat</b>	<b>Del A9957</b>	<b>50 ml</b>
Hver indeholder fosfat bufferet saltvand (PBS), 1,0% Tween-20®, og 0,035% ProClin 300		
<b>4 Complement Speciment Diluent</b>	<b>Del A3670</b>	<b>50 ml</b>
Indeholder PBS, 0,05% Tween-20, 2,5% protein stabilisatorer, 0,035% ProClin 300		
<b>5 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 Bb Plus Konjugat</b>	<b>Del A9956</b>	<b>7 ml</b>
Indeholder horseradish peroxidase-konjugeret murin anti-human Bb opslemmet i HRP stabiliseret buffer med konserveringsmiddel		

Indeholder 0,035% ProClin 300

Tween® 20 er et registreret varemærke af ICI Americas Inc.  
ProClin® er et registreret varemærke af Rohm og Haas Company.

## NØDVENDIGE MATERIALER DER IKKE MEDFØLGER

- Timer (60 minutter interval)
- Lommeregner eller anden databehandlings metode til validering af assay
- Ren ubrugt microassay plade og/eller test rør og racks
- Beholder til vaskebuffer fortynding
- Vaske bowle eller anden immunoassay vaske system
- Justerbar multikanel pipette (8 eller 12 kanaler) eller repetér mikropipette (valgfri)
- Rene pipetter, 1 ml, 5 ml, og 10 ml
- Mikropipette og pipette tips
- Reader der er i stand til at aflæse optisk densitet (OD) mellem 0,0 og 2,0
- Ionbyttet eller destilleret vand

## ADVARSLER OG FORSİGTIGHEDS REGLER

- Til *in vitro* Diagnostik.
- Brug af Heparin plasma i dette assay kan give forkerte resultater.
- Blodprøver skal behandles som potentielt infektiøse. Følg generelle sikkerhedsregler når dette kit eller patientprøver håndteres.
- Anvend de medfølgende materialer som en samlet enhed og anvend dem inden udløbsdatoen, der er indikeret på pakkemærkaten.
- Opbevar kit reagenserne som anvist.
- Anvend ikke coatede strips hvis posen er itu.
- Bunden af brøndene må ikke skrubes eller røres når der tilsættes eller opsuges væsker fra microassay brøndene.
- Brug af inkubationstid eller temperatur forskellig fra de angivne kan give forkerte resultater.
- Mikroassay brøndene må ikke tørre ud når proceduren er startet.
- Brug ikke en brønd til mere end én test
- Multikanal pipette eller repeter pipette anbefales for at sikre rettidig inkubationstider.
- For fejlfri aflæsning skal prøver og standarder placeres korrekt Afpipeter omhyggeligt og anvend kun kalibreret udstyr.
- Korrekt venepunktur og opbevaring af blodprøver er essentiel for korrekte resultater (*se PRØVE INDSAMLING OG PRÆPARATION*, side 4).
- Undgå mikrobiel eller kryds-kontamination af prøver, reagenser eller materiale. Ukorrekte resultater kan ses ved kontaminering.
- Hver donor enhed der er anvendt til fremstilling af standarder og kontrol sera blev testet med en FDA godkendt metode for tilstedeværelse af antistof mod human immundefekt virus, (HIV 1 og 2) og hepatitis C virus, såvel som for hepatitis B surface antigen og fundet negativ (ikke gentagen reaktiv). 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 blodprøver i Centers for Disease Control/National Institutes of Health's vejledning "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2007.
- ProClin® 300 anvendes som konserveringsmiddel. Utsigtet kontakt med eller indtagelse af buffer eller reagenser indeholdende ProClin kan forårsage irritation af hud, øjne eller mund. Anvend GLP til at reducere eksponering. Søg læge hvis du oplever symptomer.
- **Substrat koncentrat er lysfølsomt. Undgå forlænget udsættelse for stærkt eller direkte lys. Opbevar reagenser mørkt når de ikke anvendes.**
- For at undgå aerosol dannelse under vask anvendes et apparat til opsugning i en beholder med husholdnings klor.

- **Brug en skylleflaske til at skylle pladen. For at sikre optimale resultater må man ikke bruge en multikanalpipette til at skylle microassay-pladen.** Varme-inaktiveret, hyperlipemic eller kontamineret prøve kan give ukorrekte resultater.
- Testning skal udføres i et område med tilstrækkelig ventilation.
- Bortskaf beholdere og ubrugt indhold i henhold til gældende kliniske retningslinjer for bortskaffelse af biologisk farligt materiale.
- Bær egnet beskyttelsestøj, handsker og øjen/ansigtsbeskyttelse ved håndtering af indholdet i dette kit.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering.
- For yderligere oplysninger om faresymboler, sikkerhed, håndtering og bortskaffelse af komponenterne i dette kit henvises til sikkerhedsdatabladet (SDS), der findes på [quidel.com](http://quidel.com).

## REAGENS FORBEREDELSE

**Bring alle reagenser og materialer op til 15°C til 25°C før brug.**

Efter at have udtaget de nødvendige reagenser og materialer returneres de ubrugte varer til korrekt opbevaringstemperatur (se *OPBEVARING*).

### Coatede Strips

Beregn antallet af strips, der er nødvendig. Udtag det valgte antal strips. Sæt de strips, der skal bruges i plade rammen. Læg de ubrugte strips tilbage i opbevaringsposen, forsegl posen og opbevar den ved 2°C til 8°C.

### Vaskeopløsning

Fremstil vaskeopløsning til vask af brøndene ved at fortynde 50 ml af 20X Wash Solution koncentrat op til en brugsfortynding på i alt 1 liter med destilleret eller ionbyttet vand. Miks grundigt før brug. Vaskeopløsningen er stabil i 30 dage når den opbevares i en ren beholder ved 2°C til 8°C. Hvis der opstår urenheder smides reagenset ud.

### Bb Plus Standard og kontrol rekonstitution

Tilsæt 1,0 ml. af Hydrating Reagens til hver standard glas (A-E) samt til den lave kontrol og den høje kontrol. Lad de opløste glas stå i mindst 15 minutter ved stuetemperatur. Miks grundigt. Undgå at danne skum eller bobler, når du mikser. Rekonstituerede standarder og kontroller er stabile i 30 dage når de opbevares ved 2°C til 8°C.

### Prøve fortynding

**FORSIGTIG:** Alle prøver bør behandles som potentiel infektiøs. Anvend ikke varme-inaktiverede eller kontaminerede prøver.

Det anbefales at fortynde plasma prøver 1:10 i Specimen Diluent inden brug af MicroVue Bb Plus Enzym Immunoassay. Det anbefales at fortynde serum prøver 1:20 i Specimen Diluent. Når prøverne er fortyndet, skal de tilsættes brøndene indenfor 30 minutter. Gem eller genbrug ikke fortyndede prøver. Eventuel overskydende fortyndet materiale skal kastes bort.

**Prøver med høje værdier af komplement aktivering kan kræve højere fortynding end de angivne.**

### Tilsætning af fortyndet prøve til microtiterbrøndene

En af to metoder kan anvendes ved tilsætning af fortyndede prøver, standarder, kontroller og buffer til brøndene (se Step 3 af *ANALYSEPROCEDURE*). Ved et lille antal prøver der skal testes kan fortyndede prøver og andre reagenser tilsættes direkte til deres respektive brønde med en mikropipette (100 µL/brønd). For et lille eller stort antal prøver, specielt et stort antal, anbefaler vi at bruge en multikanel pipette ved tilsætning af prøver. **(En multi-kanel pipette kan også bekvemt anvendes til tilsætning af konjugat, substrat og stop reagens).**

For at tilsætte standarder, kontroller og fortyndet prøvemateriale til brøndene så hurtigt som muligt, kan "kopi plade" procedure anvendes. I stedet for at tilsætte 100 µL af hver standard, kontrol eller fortyndet prøve til de antistofcoatede brønde individuelt, kan 120-130 µL af hver opløsning opdryppes i individuelle brønde i en blank plade (medfølger ikke) der korresponderer den endelige EIA plade. Når alle blandingerne, der ønskes testet, er dryppet op i de respektive brønde i den blanke plade, kan man hurtigt overføre 100 µL fra hver blank brønd til de antistof-coatede brønde med en multikanel pipette. For at undgå muligheden for kryds- kontaminering skal pipette spidser skiftes hver gang man har overført en række.

## OPBEVARING

Det uåbne kit opbevares ved 2°C til 8°C. Efter åbning skal 20X Wash Solution koncentrat og Hydrating Reagent opbevares ved 2°C til 25°C.

Alle reagenser skal opnå stuetemperatur (15°C til 25°C) før brug. Placer alle ubrugte microassay strips i opbevaringsposen; luk posen og opbevar ved 2°C til 8°C.

## INDIKTIONER PÅ USTABILITET ELLER FORRINGELSE AF REAGENSER

Uklarhed i Wash Solution indikerer en ødelæggelse af dette reagens. Hvis dette ses bør væsken kasseres.

## PRØVE INDSAMLING OG PRÆPARATION

**Håndtering og bortskaffelse af alle prøver i henhold til universale sikkerhedsprocedure.**

Korrekt prøvetagning og opbevaring af materiale er essentiel idet Factor Bb er følsom for proteolyse i forkert udtaget og opbevaret materiale.

På grund af komplement aktivering der sker under koagulation vil Bb koncentrationen i normale humane serum prøver være højere end dem fra EDTA plasma prøver. Bb niveauet i EDTA plasma kan derfor repræsenterer et mere akkurat mål for *in vivo* koncentrationerne.

Serum eller EDTA plasma prøver bør tages aseptisk ved standard teknik. Prøverne bør testes straks eller opbevares ved 4°C eller på is indtil de analyseres. Dog bør denne kort tids opbevaring på is ikke overstige 4 timer.

For længere opbevaring skal serum eller plasma fryses ved -70°C eller derunder indenfor 2 timer efter prøven er taget.

Tø frosne ( $\leq -70^{\circ}\text{C}$ ) prøver hurtigt i et 37°C vandbad indtil prøven netop er tøet. Overfør straks optøede prøver til is (for maksimalt 4 timer) for at forhindre komplement aktivering før fortynding. **Efterlad ikke prøver ved 37°C.** Tø ikke prøver ved stuetemperatur eller 4°C da det kan føre til komplement aktivering. Frosne prøver skal testes så hurtigt som muligt efter optøning. Gentagne frysninger og optøninger anbefales ikke. Hvis prøverne skal gen-fryses for yderligere analyse, anbefaler Quidel at fryse flere aliquot af prøven for at forhindre gentagne fryse/tø forløb.

## ANALYSEPROCEDURE

**Læs hele brugsanvisningen inden opstart af assayet.**

Se ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER og REAGENS FORBEREDELSE.

1. Registrer brøndenes positioner sammenholdt med de blanke brønde, alle prøver, standarder og kontroller så vel som lot numre fra glassenes mærkater. Marker et hjørne af pladen ad hensyn til retningen.
2. Forbered microassay stripsne som følger:

- a. Tilsæt ca. 300 µL wash solution til hver brønd ved hjælp af enten en sprøjteflaske eller en automatiseret plade vasker. **BEMÆRKBEMÆRK: For at sikre optimale resultater må man ikke bruge en multikanalpipette til at skylle microassay pladen.**
- b. Inkubér brøndene i 1 minut ved 15°C til 25°C.
- c. Opsug indholdet fra hver brønd.
- d. Tilsæt ca. 300 µL Wash Solution til hver brønd.
- e. Opsug indholdet fra hver brønd.
- f. Gentag step d-e yderligere én gang for at opnå 3x vask.**
- g. Vend pladen på hovedet og bank hårdt på absorberende papir for at fjerne tiloversblevet væske.
3. Tilsæt 100 µL Specimen Diluent, Rekonstituerede standarder, kontroller eller fortyndet prøve til de respektive brønde.
4. Inkubér ved 15°C til 25°C i 30 ± 1 minut.
5. Vask brøndene 5 gange efter følgende procedure:
  - a. Opsug indholdet fra hver brønd.
  - b. Tilsæt ca. 300 µL Vaskeopløsning til hver brønd ved hjælp af en sprøjteflaske eller automatisk vasker. **BEMÆRK: For at sikre optimale resultater må man ikke bruge en multikanalpipette til at skylle microassay-pladen** Inkubér brøndene i 1 minut ved 15°C til 25°C.
  - c. Opsug indholdet fra hver brønd.
  - d. Tilsæt ca. 300 µL vaskeopløsning til hver brønd.
  - e. Opsug indholdet fra hver brønd.
  - f. Gentag step e-f yderligere 3 gange.**
  - g. Efter 5 vask vendes pladen på hovedet. Bank solidt på absorberende papir for at fjerne tiloversblevet væske.
6. Dispenser 50 µL af Bb konjugat til hver vasket brønd inklusiv de(n) blank(e) brønd(e) ved hjælp af en multikanal pipette eller en repetér pipette.
7. Inkubér stripsne ved 15°C til 25°C i 30 ± 1 minut.
8. Vask brøndene efter 30-minutters inkubation (step 7), som beskrevet under *ASSAY PROCEDURE*, step 5. **BEMÆRK: For at sikre optimale resultater må man ikke bruge en multikanalpipette til at skylle microassay pladen**
9. Straks efter vaskeproceduren dispenseres 100 µL TMB Substrate Solution til hver brønd inklusiv de(n) blanke. **BEMÆRK: TMB Substrate skal beskyttes mod lys under opbevaring og inkubering. TMB Substrate må ikke dispenseres ned i en reagensbeholder eller et andet apparat, hvor udsættelse for lys kan forekomme, indtil umiddelbart før dispensering ned i microassay brøndene.**
10. Inkubér stripsne ved 15°C til 25°C i 15 ± 1 minut i mørket.
11. Tilsæt 100 µL Stop Solution til hver brønd for at stoppe enzym reaktionen. Stop Solution skal tilsættes brøndene i samme rækkefølge som Substrate Solution blev tilsat.
12. Bank forsigtigt pladen på bordpladen for at fordele farveudviklingen helt og jævnt.
13. Aflæs absorbans ved 450 nm for hver brønd indenfor en time efter tilsætning af Stop Solution (step 11), og anvend de(n) blanke som korrektion i overensstemmelse med det anvendte spektrofotometriske system.
14. Bortskaf overskydende fortyndede prøver, kontroller, substrat og de brugte strips (se *ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDS REGLER*).

## KVALITETS KONTROL

Analyse certifikatet, der er inkluderet i dette kit, er lot specifik og skal anvendes til at verificere at resultater opnået i laboratoriet er tilsvarende dem Quidel Corporation har opnået. De opgivne Optisk Densitet (OD) værdier er kun tiltænkt som guidelines. De opnåede resultater i laboratoriet kan adskille sig herfra.

Kvalitetskontrol intervaller er opgivet. Kontrolværdierne er tiltænkt til verificering af prøve resultater og validering af kurven. Hvert laboratorium bør etablere egne parametre for acceptable grænseværdier. Hvis kontrol værdierne IKKE er indenfor laboratoriets acceptable grænser, bør test resultaterne betragtes som tvivlsomme og prøverne bør gentages.

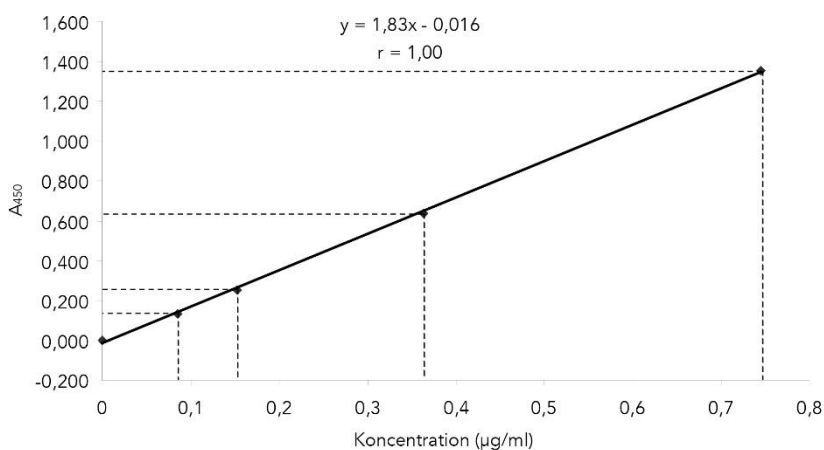
## TOLKNING AF RESULTATER

### Brug af standardkurve

Standardkurven for Bb EIA er skabt ved at anvende den blanke A450 værdi subtraheret fra hver standard værdi (på y akse) og den fastsatte koncentration for hver standard (på x akse). Efter lineær regression må den generede standardkurve opfylde valideringskravene (se herunder). De fleste computere og lommeregnerne er i stand til at udføre disse kalkulationer.

Alternativt kan dataene afbilledes manuelt og værdierne ( $\mu\text{g/ml}$ ) af testprøverne aflæses direkte fra den bedst-egnet linje af standardkurven. Et eksempel på en typisk standardkurve er vist i figur 1.

**Figur 1.**  
**Repræsentativ Standardkurve**



### Beregning af aktuel Bb koncentration i test prøver

Den aktuelle Bb koncentration der er til stede i hver ufortyndet prøve bestemmes ved at multiplicere koncentrationen af Bb/ml aflæst på kit standardkurven med den reciprokke værdi af den anvendte fortyndingsfaktor.

Hvis A<sub>450</sub> værdien for en given prøve er større end den højeste Bb kit standard (E), skal resultatet afgives som "større end" Bb koncentrationen af den højeste kit standard (E) ganget med fortyndings faktoren. Hvis en mere præcis Bb koncentration kræves skal prøven re-analyseres med en højere fortyndings faktor. I alle gentagne assay skal Bb kit standarder og kontroller også inkluderes.

## VALIDERING

Fastlæg hældningen, skæringen og korrelations koefficienten af den afledte bedst-egnet linje. For at assayet kan anses som godkendt, skal værdierne være indenfor den specificerede grænse:

---

korrelations koefficient (r):	> 0,96
hældning (m):	mellem 1,094 og 2,558
y-skæring (b):	mellem (-)0,145 og 0,113

---

Læs analysecertifikatet for det acceptable Bb-koncentrationsområde for de høje og lave kontroller.

## BEGRÆNSNINGER

MicroVue Bb Plus Enzym Immunoassay har været anvendt til prøver taget som serum eller plasma i EDTA. Heparin plasma er IKKE anvendeligt til dette assay. Andre antikoagulanter har ikke været testet.



## EFFEKTIVITET

### Begrænsninger

**LOD:** Detektionsgrænsen (LOD) for Bb Plus assay er 0,018 µg/ml, fastlagt ved øverste 3SD grænse i et nul-standard studie.

**LLOQ:** Den laveste grænse for kvantitering (LLOQ) for Bb Plus assay er 0,033 µg/ml, den laveste koncentration på standardkurven der opfylder NCCLS kriterier for nøjagtighed og præcision.

**ULOQ:** Den øverste grænse for kvantitering (ULOQ) for Bb Plus assay er 0,836 µg/ml, den højeste koncentration der opfylder NCCLS kriterier for nøjagtighed og præcision.

### Interfererende Substancer

Na<sup>+</sup> Heparin ved 14 U/ml (koncentration overensstemmende med Heparin plasma prøveglas) interferere med Bb Plus assay og anbefales derfor ikke til brug som plasma antikoagulans i prøveglas.

Følgende substanser blev testet i Bb Plus assay og fundet ikke interfererende med assayet:

Substans	Koncentration
Bilirubin	40 mg/dl
Hæmoglobin	500 mg/dl
Triglycerider	3000 mg/dl
Albumin	6000 mg/dl
Glucose	1200 mg/dl
Kolesterol	500 mg/dl

### Præcision

Under kørsel og mellem kørsler præcision blev aflæst ved kørsel af 20 replikater af 2 plasma prøver og 2 serum prøver i 10 forskellige kørsler.

Prove	Bb (µg/ml)	Under kørsel <sup>1</sup> C.V. (%)	Mellem kørsler <sup>2</sup> C.V. (%)
EDTA	1,550	2,4	7,7
Plasma	0,517	2,5	6,7
Serum	2,129	3,1	6,2
	2,375	4,0	9,1

<sup>1</sup>n=20 replikater    <sup>2</sup>n=10 kørsler

### Linearitet

Linearitet blev foretaget ved seriel fortynding af prøver og observerede værdier sammenlignet med forventede værdier. Typiske resultater er vist herunder.

Prøve	Fortyndings faktor	Observeret Bb (µg/ml)	Forventet Bb (µg/ml)	Recovery (%)
EDTA Plasma	1:10	0,160	*	*
	1:16	0,107	0,100	106,9%
	1:20	0,079	0,080	98,7%
	1:32	0,052	0,050	103,9%
Serum 1	1:20	0,161	*	*
	1:32	0,103	0,101	102,0%
	1:40	0,069	0,081	85,4%
	1:64	0,044	0,050	87,2%
Serum 2	1:20	0,597	*	*
	1:25	0,467	0,478	97,7%
	1:30	0,420	0,398	105,4%
	1:40	0,310	0,299	103,8%
	1:50	0,230	0,239	96,2%
	1:60	0,196	0,199	98,4%
	1:80	0,133	0,149	89,0%

## PRØVE VÆRDIER

EDTA plasma fra seksogtredive (36) og serum fra niogfyrrer (49) normale donorer blev testet i MicroVue Bb Plus Enzym Immunoassay kit. Resultaterne er præsenteret herunder.

	n	Gennemsnitlig (µg/ml)	OMRÅDE (µg/ml)	
			± 2 SD	± 3 SD
EDTA Plasma	36	0,96	0,49 til 1,42	0,26 til 1,65
Serum	49	3,53	0,80 til 6,26	0,0 til 7,62

OBS: Mean og Standard Deviation (SD) for Bb fragment koncentrationer fastlagt for plasma eller serum prøver kan variere mellem laboratorier. Det anbefales derfor at hvert laboratorium fastsætter mean Bb fragment koncentration og standard deviation værdier for prøver.

## ASSISTANCE

For services udenfor U.S.A eller for teknisk assistance, kontakt venligst din lokale distributør. Yderligere information om Quidel, vores produkter og vore distributører kan findes på [www.quidel.com](http://www.quidel.com).

## REFERENCER

- Schreiber, R.D. and Müller-Eberhard, H.J. 1980. New developments in the activation of the alternative pathway of complement. In: *Immunoassays: Clinical Laboratory Techniques for the 1980's*. Alan R. Liss, Inc., New York. p.411.
- Gotze, O. and Müller-Eberhard, H.J. 1976. The alternative pathway of complement activation. *Adv. Immunol.* 24:1.
- Fearon, D.T. and Austen, K.F. 1980. Current concepts in immunology: the alternative pathway of complement – a system for host resistance to microbial infection. *New Engl. J. Med.* 303: 259
- Pangburn, M.K. and Müller-Eberhard, H.J. 1984. The alternative pathway of complement. *Springer Semin Immunopathol* 7:163.
- Ratnoff, W.E., Fearon, D.T., and Austen, K.F. 1983. The role of antibody in the activation of the alternative complement pathway. *Springer Semin Immunopathol* 6:361.
- Hugli, T.E. 1986. Biochemistry and biology of anaphylatoxins. *Complement* 3:111

7. Fearon, D.T. and Austen, K.F. 1977. Activation of the alternative complement pathway due to resistance of zymosan-bound amplification convertase to endogenous regulatory mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 74:1 1683.
8. Fearon, D.T. 1979. Regulation of the amplification C3 convertase of human complement by an inhibitory protein isolated from human erythrocyte membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 76: 5867.
9. Fishelson, Z. and Müller-Eberhard, H.J. 1984. Residual hemolytic and proteolytic activity expressed by Bb after decay-dissociation of C3b,Bb. *J. Immunol.* 132:1425.
10. Gotze, O., Bianco, C. and Cohn, Z.A. 1979. The induction of macrophage spreading by Factor B of the properdin system. *J. Exe. Med.* 149:372.
11. Sundsmo, J.S. and Wood, L.M. 1981. Activated factor B(Bb) of the alternative pathway of complement activation cleaves and activates plasminogen. *J. Immunol.* 127:877.
12. Kolb,W.P., Morrow, P.R. and Tamerius, J.D. 1989. Ba and Bb Fragments of Factor B activation: Fragment production, biological activities, neoepitope expression and quantitation in clinical samples. *Complement and Inflammation* 6:175.
13. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.
14. Sefton, M.V., et al. 1994. "Using ELISA to evaluate complement activation by reference biomaterials" *J. Mat. Sci* 5:622-627,.
15. Mold, C. Tamerius, J.D., et al. 1995"Complement activation during painful crisis in sickle cell anemia" *Clinical Immunology and Immunopathology* 70:3,314-320.
16. Manzi, S. Rairie, J. et al. 1996 "Sensitivity and Specificity of plasma and urine complement split products as indicators of lupus disease activity" *Arthritis and Rheumatism* 39(7)1178-1188.
17. J.Jarvis, Taylor, H. 1994. "Complement activation and immune complexes in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis: a longitudinal study" *J Rheumatology* 21(6) 1124-1127.
18. Aggarwaal, et al. 2000." Evidence for activation of the alternative complement pathway in patients with juvenile rheumatoid arthritis" *Rheumatology* 39:189-192.
19. J. Buyon, Tamerius J. et al.1992. "Assessment of Disease activity and impending flare in patients with systemic lupus erythematosus" *Arthritis and Rheumatism* 35(9) 1028-1036.
20. D. Shaw, Rustagi, P. et al. 1997. "Effects of Synthetic Oligonucleotides on human complement and coagulation" *Biochemical Pharmacol* 53(8)1123-1132.
21. Mollnes. T.E., et al. 1999. "Complement activation in patients with systemic lupus erythematosus without nephritis" *Rheumatology* 38:933-940.
22. Sturfelt, G, Truedsson, L. 2005. "Complement and its breakdown products in SLE" *Rheumatology* 44:1227-1232.
23. Alexander, J.J. et al. 2005. "Complement-dependent apoptosis and inflammatory gene changes in murine lupus cebritis" *J. Immunology* 175:8312-8319.
24. Thurman, J., Holers, V.M. 2006. "The central role of the alternative pathway in human disease" *J. Immunology* 176:1305-1310.
25. Pawluczkwycz, A.W et al. 2007. "Hematin promotes complement alternative pathway-mediated deposition of C3 activation fragments on human erythrocytes: potential implications for the pathogenesis of anemia in malaria" *J. Immunology* 179:5543-5552.
26. Atkinson, C. et al. 2008. "Low-dose targeted complement inhibition protects against renal disease and other manifestations of autoimmune disease in MRL/lpr mice" *J. Immunology* 180:1231-1238.

**REF** A027 – MicroVue Bb Plus Fragment EIA Kit

**IVD**





MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover,  
Germany



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

**PIA027003DA00 (09/21)**

## ORDLISTE

---

**REF**

Katalognummer



CE-mærket for overensstemmelse

---

**EC REP**

Autoriseret repræsentant i det Europæiske

**LOT**

Batch-code

---



Anvendes inden



Producent

---



Temperaturbegrænsning



Tilsigtet anvendelse

---



Konsultere brugsanvisningen e-mærkning af



Biologisk fare

---

**IVD**

Til *in vitro* diagnostisk anvendelse



Indeholder nok til 96 bestemmelser

---

**CONT**

Inghold/Indeholder

**CONTROL**

Prøve

---