



QUIDEL

MicroVue™ Complement

Bb Plus Fragment EIA

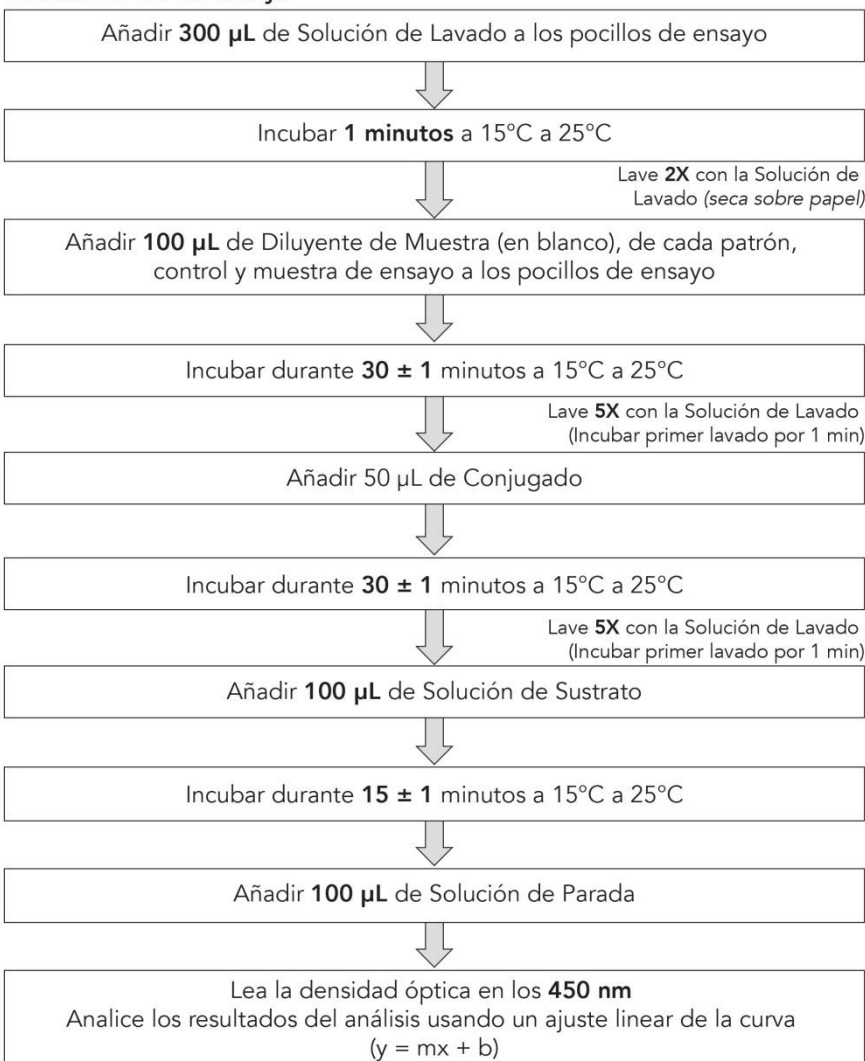
Un inmunoensayo para la cuantificación de Fragmento Bb, un indicador de la activación de la Vía Alternativa del Complemento, en muestras de suero humano o plasma

RESUMEN

Preparación de los Reactivos y de las Muestras

- Diluir la Solución de Lavado Concentrado 1:20 con agua desionizada
- Reconstituir cada Calibrador y Control con 1,0 mL del Reactivo Hidratante (*déjelo por 15 minutos, y mezcle suavemente antes de uso*)
- Diluir las muestras de plasma 1:10 en el Diluyente de Muestras (e.g. 50 μ L + 450 μ L) (*Añada a los pocillos de ensayo en el plazo de 30 minutos*)
- Diluir las muestras de suero 1:20 en el Diluyente de Muestras (e.g. 25 μ L + 475 μ L) (*Añada a los pocillos de ensayo en el plazo de 30 minutos*)

Procedimiento de ensayo





USO PREVISTO

El ensayo inmunoenzimático MicroVue Bb Plus mide la cantidad de fragmentos Bb del complemento en muestras de suero humano o plasma. La medida de Bb en suero humano, plasma u otros fluidos biológicos proporciona evidencias de la participación de la vía alternativa del complemento. La medida de la activación de la vía alternativa del complemento ayuda en el diagnóstico de enfermedades hepáticas, por ejemplo, glomerulonefritis crónica, nefritis lupus, así como de enfermedades de la piel, como dermatitis herpetiforme y pénfigo vulgar. Otras enfermedades en las que la activación de la vía alternativa del complemento ha sido observada incluyen la artritis reumatoide, anemia drepanocítica, y infecciones de bacterias gram negativas.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La vía alternativa del complemento proporciona protección innata contra los agentes microbiológicos en ausencia de anticuerpos específicos.¹⁻⁵ La activación de esta vía del complemento puede ser el desencadenante de una variedad de sustancias incluídas polisacáridos o lípidos microbiológicos, lipopolisacáridos bacterianos gram negativos, y determinantes de superficie presentes en algunos virus, parásitos y células cancerígenas. En enfermedades autoinmunes, la vía alternativa del complemento puede contribuir directamente al daño tisular.

Una reacción importante que se produce durante la activación de la vía alternativa es la conversión del Factor B zymogen de 93 Kd de peso molecular en un enzima proteolítico activo. Esta es una reacción compleja que se produce en dos pasos. Durante el primer paso de la reacción el Factor B forma un complejo magnesio-dependiente con C3(H₂O) or C3b.⁴ El complejo C3(H₂O),B está formado solamente en fase líquida mientras el complejo C3b,B puede formarse tanto en fase líquida como en superficie.¹⁻⁴ El Factor B, que está presente en el complejo C3(H₂O),B o el complejo C3b,B, está unido a los fragmentos Ba (33 Kd) y Bb (60 Kd) en el segundo paso de la reacción por el enzima de la vía alternativa, Factor D.¹⁻⁴ El complejo biomolecular resultante C3b,Bb es el enzima C3 convertasa de la vía alternativa. La subunidad Bb es el lugar catalíticamente activo del complejo que es capaz de convertir C3 en los fragmentos C3a y C3b.^{1-4,6} Los fragmentos adicionales C3b producidos de esta manera pueden formar el complejo trimolecular C3b,Bb,C3b que es el enzima C5 convertasa de la vía alternativa. Esta C5 convertasa es capaz de convertir C5 en fragmentos C5a y C5b.^{1-4,6}

Las convertasas C3 y C5 de la vía alternativa pueden estar estabilizadas por el Factor P (también llamado Properdin), un componente de la vía alternativa normalmente presente en suero o plasma humano,¹⁻⁴ o por el factor nefrítico C3, un autoanticuerpo producido en algunos pacientes que sufren la activación de la vía alternativa.⁵ Las convertasas C3 y C5 de la vía alternativa pueden estar disociadas, e inactivadas, por disociación espontánea,⁷ or por la unión del Factor H o el Receptor 1 de Complemento (CR1).^{4,8} El fragmento Bb que está disociado de cualquier convertasa retiene algunas actividades biológicas, por ejemplo, retención de la actividad hemolítica funcional,^{4,9} la habilidad de inducir la proliferación de macrófagos,¹⁰ y la activación de plasminógeno.¹¹

A pesar de que la activación de la vía alternativa se piensa que ocurre primariamente en ausencia de anticuerpos específicos, en muchas situaciones la activación de la vía alternativa puede ocurrir como resultado de la activación de la vía clásica. Por ejemplo, los complejos inmunes que están presentes en pacientes con enfermedades autoinmunes pueden disparar la activación de la vía clásica del complemento con la producción resultante de fragmentos C3b. Como se ha descrito, estas moléculas C3b son capaces de unir Factor B e iniciar su escisión en fragmentos Ba y Bb. Así, la activación de la vía alternativa puede ocurrir en estados autoinmunes mediados por anticuerpos y puede contribuir significativamente a incrementar la activación del complemento y la consecuente destrucción tisular.

Al evaluar productos de escisión del Factor B en especímenes de prueba, puede uno estimar el grado de utilización de la vía alternativa que ocurre al mismo tiempo que se obtiene la muestra sobre investigación del estado autoinmune. El kit de MicroVue Bb Plus EIA proporciona un procedimiento simple, rápido, no-

radiactivo, altamente específico, y cuantitativo para la medida la activación del Factor B. Es ideal para las investigaciones relacionadas con el rol o estado de la vía alternativa del complemento en clínica e investigación, y para monitorizar la generación de Bb *in vitro*.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El inmunoensayo enzimático MicroVue Bb Plus para la cuantificación en suero humano, plasma, u otras muestras es un proceso de tres pasos utilizando (1) una microplaca cubierta con un anticuerpo monoclonal de ratón que une específicamente a Bb humano, (2) un anti-Bb humano murino conjugado con HRP, y (3) un substrato cromogénico.

En el primer paso, Calibradores, Controles, y Muestras son añadidas a los pocillos de la microplaca recubiertos con el anticuerpo monoclonal específico anti-Bb. Bb, pero no Factor B ni otros productos de la activación de complemento, presentes en Calibradores, Controles, o muestras se unirán al anticuerpo monoclonal anti-Bb inmovilizado. Después de la incubación, un ciclo de lavado eliminará el material no unido.

En el segundo paso, el anticuerpo murino anti-Bb conjugada con HRP se añade a cada pocillo. El anticuerpo anti-Bb conjugado se une a Bb capturado en los pocillos de la microplaca Después de la incubación, un ciclo de lavado elimina el material no unido.

En el tercer paso, un substrato enzimático cromogénico se añade a cada pocillo de la microplaca. El conjugado-HRP unido reacciona con el substrato, formando un color azul. Después de la incubación, la reacción enzimática se detiene químicamente, el color azul cambia a amarillo, y la intensidad del color se mide espectrofotométricamente a 450 nm. La intensidad del color de la reacción es proporcional a la concentración de Bb presente en la muestra, Calibradores y Controles.

REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS

96 Ensayos para el fragmento Bb del Factor B

El kit de inmunoensayo enzimático MicroVue Bb Plus Enzyme contiene:

A	Calibradores Bb Plus	Cód. A9948-A9952	1 mL cada uno
B	(liofilizado) Contiene una concentración conocida de Bb humano en suero humano diluído en PBS,		
C	proteínas estabilizadoras, 0,035% ProClin® 300		
D			
E			
L	Controles bajo Bb Plus	Cód. A9953	1 mL
	(liofilizado) Contiene una concentración conocida de Bb humano en suero humano diluído en PBS,		
	proteínas estabilizadoras, 0,035% ProClin® 300		
H	Controles alto Bb Plus	Cód. A9955	1 mL
	(liofilizado) Contiene una concentración conocida de Bb humano en suero humano diluído en PBS,		
	proteínas estabilizadoras, 0,035% ProClin® 300		
1	Microplaca	Cód. A9559	12 cada uno
	12 tiras de 8 pocillos cubiertas con un anticuerpo monoclonal purificado específico para Bb humano		
2	Solución de parada	Cód. A9947	12 mL
	Contiene Ác. Clorhídrico 1N		
3	Solución de lavado 20X concentrado	Cód. A9957	50 mL
	Contiene PBS, 1,0% Tween-20®, y 0,035% ProClin 300		
4	Diluyente de muestras	Cód. A3670	50 mL
	Contiene PBS, 0,05% Tween-20, 2,5% proteínas estabilizadoras, 0,035% ProClin 300		

5	Substrato TMB Contiene 3,3', 5,5' tetramethylbenzidine (TMB) y Peróxido de Hidrógeno (H ₂ O ₂)	Cód. 5059 12 mL
6	Conjugado Bb Plus Contiene anticuerpo anti-Bb humano conjugado con HRP suspendido en tampón estabilizador de HRP stabilizing con preservantes	Cód. A9956 7 mL
8	Reactivo Hidratante Contiene 0,035% ProClin 300	Cód. A3675 25 mL

Tween® 20 es una marca registrada de ICI Americas Inc.
ProClin® es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Cronometro de laboratorio (60 minutos)
- Calculadora u otros métodos para validar la técnica
- Racks y tubos de muestras limpios
- Contenedor para la solución de lavado diluido
- Sistema de lavado del inmunoensayo
- Pipeta multicanal ajustable (8 o 12 canales) o micropipetas de repetición
- Pipetas limpias, 1 mL, 5 mL, y 10 mL
- Puntas de pipeta
- Lector de placa sapto para valores de densidades ópticas entre 0,0 and 2,0
- Agua destilada o desionizada

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso *Diagnóstico in vitro*.
- La utilización de Heparina Plasma en esta técnica puede originar resultados erróneos.
- Tratar las muestras como material potencialmente peligroso. Seguir el manual de Precauciones Universal para el tratamiento del contenido del kit y las muestras.
- Utilizar los reactivos suministrados como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.
- Almacenar los reactivos según se indica.
- No utilizar las tiras recubiertas si la protección está agujereada.
- Cuando añadens o aspiran líquidos de los pocillos de la microplaca, no tocar el fondo del pocillo.
- La utilización de los tiempos de incubación y temperaturas diferentes a las indicadas en la sección Procedimiento puede originar resultados erróneos.
- No permitir que los pocillos de la microplaca se sequen una vez que la técnica se ha iniciado.
- No utilizar un pocillo más de una vez.
- Utilizar pipetas multicanal o pipetas de repetición para asegurar los tiempos de dispensación de reactivos.
- Para una adecuada medida de las muestras, añadir las muestras y los calibradores de forma precisa. Pipetear cuidadosamente utilizando únicamente equipo calibrado.
- La colección y el almacenamiento de las muestras de forma apropiada son esenciales para la obtención de resultados precisos (ver COLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS, página 6).
- Evitar contaminación microbiana y entre muestras, reactivos, o materiales. Pueden obtenerse resultados incorrectos si se produce contaminación.
- Utilizar ropa protectora, guantes y protección ocular mientras se manipula el contenido del kit.
- Cada unidad de donante utilizada en la preparación de los sueros Calibradores y Controles han sido probados por un método aprobado por la FDA para la detección de anticuerpos contra HIV 1 y 2 y HVC, así como para el antígeno de superficie de la Hepatitis B. Todos los resultados fueron negativos. Sin embargo, como ningún método puede ofrecer la completa seguridad de la ausencia de agentes infecciosos, estos reactivos deben ser manipulados bajo el Nivel 2 de Bioseguridad como se recomienda para cualquier muestra de suero o sangre potencialmente infecciosa en el manual "Biosafety in Micro-biological and Biomedical Laboratories" 2007.

- ProClin 300 es utilizado como preservante. Contacto accidental o ingestión de tampones o reactivos que contienen ProClin pueden causar irritación de la piel, ojos, o boca. Utilizar las buenas prácticas de laboratorio para reducir la exposición.
- **El Sustrato Concentrado es fotosensible. Evitar la exposición prolongada a la luz directa. Almacenar los reactivos en la oscuridad cuando no se están utilizando.**
- Para evitar la formación de aerosoles durante el lavado, utilizar un aparato para aspirar el líquido de lavado en un recipiente que contenga lejía de uso doméstico.
- **Se debe utilizar una botella de lavado para lavar la placa. Para obtener mejores resultados, no use una pipeta multicanal para lavar la placa de microensayo.**
- Muestras inactivadas por calor, hiperlipémicas o contaminadas pueden dar resultados erróneos.
- La prueba debe realizarse en una zona que disponga de la ventilación adecuada.
- Deseche los envases y contenido no utilizado conforme a los requerimientos locales, estatales y federales reglamentarios.
- Vista preferentemente ropa protectora, guantes y protección para ojos/cara cuando esté manipulando los componentes del kit.
- Lavarse bien las manos después de manipular el kit.
- Para obtener información adicional sobre símbolos de peligro, seguridad, manipulación y eliminación de los componentes de este kit, consulte la Ficha de datos de seguridad (*Safety Data Sheet, SDS*) que se encuentra en quidel.com.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Traer todos los reactivos y materiales a 15°C a 25°C antes de su utilización.

Después de remover todos los reactivos y materiales necesarios, devolver el material no necesario a las temperaturas apropiadas de almacenamiento (ver *ALMACENAMIENTO*).

Tiras recubiertas

Determinar el número de tiras necesarias para la realización del ensayo. Remover el número de tiras necesarias. El material no necesario devolverlo a la bolsa de almacenamiento, cerrarla, y almacenar a 2°C a 8°C.

Solución de Lavado

Preparar la Solución de Lavado diluyendo 50 mL de Solución de Lavado Concentrada 20X hasta un volumen final de un litro con agua destilada o desionizada. Mezclar vigorosamente antes de su utilización. La Solución de Lavado es estable durante 30 días cuando se almacena en un recipiente limpio a 2°C a 8°C. Si se observa turbidez, desechar el reactivo.

Reconstitución de Calibradores y Controles Bb Plus

Añadir 1.0 mL de Reactivo de Hidratante a cada frasco de Calibrador (A-E), y al de Control Bajo y Control Alto. Permitir la rehidratación de los frascos reconstituídos durante al menos 15 minutos a temperatura ambiente. Mezclar completamente. Evitar la formación de espuma o burbujas durante el mezclado. Los calibradores y controles reconstituído son estables durante 30 días almacenados a 2°C a 8°C.

Dilución de Muestras

Precaución: Tratar todas las muestras como si fueran potencialmente infecciosas. No utilizar muestras inactivadas por calor o contaminadas.

Se recomienda que las muestras de plasma sean diluídas 1:10 en Diluyente de Muestras para ser utilizadas. Se recomienda que las muestras de suero sean diluídas 1:20 en Diluyente de Muestras. Una vez diluídas, las muestras deben añadirse a los pocillos en un máximo de 30 minutos. No almacenar o re-utilizar las muestras diluídas.

Muestras con niveles elevados de activación de complemento pueden requerir diluciones más altas a las mencionadas.

Añadir Muestras Diluidas a la Microplaca

Pueden utilizarse dos métodos para añadir las muestras diluidas, Calibradores, Controles, y Diluyente de muestras, a los pocillos (ver Paso 3 *PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA*). Para ensayos pequeños donde se procesan un número bajo de muestras, las muestras diluidas y otros reactivos pueden añadirse directamente a sus pocillos asignados con una micropipeta (100 µL/pocillo). Para ensayos pequeños o grandes, pero especialmente para los grandes, recomendamos utilizar una pipeta multicanal para añadir las muestras. **(Una pipeta multicanal puede utilizarse también para añadir el Conjugado, Substrato o Solución de Parada).**

Con motivo de pipetear los Calibradores, Controles y muestras diluidas en la microplaca lo más rápidamente posible, puede utilizarse una “microplaca réplica.” En vez de añadir 100 µL de cada Calibrador, Control o muestra diluida a los pocillos cubiertos con anticuerpos, 120-130 µL de cada solución puede añadirse a los pocillos de la “placa réplica” vacía. Después de que todas las diluciones a procesar han sido añadidas a la “microplaca réplica,” transferir rápidamente 100 µL de cada pocillo a la microplaca con los pocillos recubiertos con anticuerpos utilizando una pipeta multicanal. Para evitar la posibilidad de contaminación, las puntas de pipeta deben ser cambiadas cada vez que hay un cambio de muestras a ser transferidas.

ALMACENAMIENTO

Almacenar el kit sin abrir a 2°C a 8°C. Una vez el kit está abierto, la Solución de Lavado Concentrada 20X y el Reactivo de Hidratación pueden almacenarse a 2°C a 25°C.

Todos los reactivos deben llevarse a temperatura ambiente (15°C a 25°C) antes de su utilización. Las tiras que no sean necesarias guardarlas en su bolsa, cerrarla y almacenar a 2°C a 8°C.

INDICACIONES DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE REACTIVOS

La turbidez de la Solución de Lavado indica un deterioro de este reactivo. Si esto sucede, la solución debe ser desechada.

COLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Manipular todas las muestras utilizando Precauciones Universales.

Una colección y un almacenamiento apropiados de las muestras son esenciales, ya que el Factor Bb es susceptible a proteólisis.

Debido a que la activación del complemento se produce durante la formación de coágulos, la concentración de Bb en muestras de suero humano normal será mayor que en aquellas obtenidas con muestras EDTA plasma. Los niveles de Bb en EDTA plasma pueden por lo tanto ser más representativas de la concentraciones *en vivo*.

Muestras de suero o EDTA plasma deben ser recolectadas asépticamente utilizando técnicas estándar. Las muestras deben ser analizadas inmediatamente o almacenadas a 4°C o en hielo hasta su utilización. Sin embargo, este almacenamiento en hielo no debe exceder cuatro horas.

Para almacenamientos de larga duración, suero o plasma debe ser congelado a -70°C o menos durante las dos horas siguientes a su colección.

Descongelar las muestras rápidamente en un baño de agua a 37°C. Transferir las muestras descongeladas inmediatamente a hielo (durante no más de cuatro horas) para prevenir la activación del complemento antes de la dilución. **No dejar las muestras a 37°C.** No descongelar las muestras a temperatura ambiente o a 4°C ya que puede llevar a la activación del complemento. Las muestras congeladas deben ser analizadas lo antes posible después de su descongelación. No se recomiendan los ciclos repetidos de congelación y descongelación. En caso de que sea necesario volver a congelar las muestras para su posterior análisis,

Quidel recomienda congelar varias alícuotas de las muestras para evitar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento.

PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA

Leer las especificaciones de la técnica antes de empezar.

Ver **PELIGROS Y PRECAUCIONES** y **PREPARACIÓN DE REACTIVOS**.

1. Tome nota de las posiciones de los pocillos de microensayo correspondientes al blanco, todas las muestras, Calibradores y Controles, así como los lotes de las etiquetas de los viales. Marcar una esquina de la microplaca para una mejor orientación.
2. Preparar las tiras del microensayo de la siguiente manera:
 - a. Añadir 300 µL de Solución de Lavado a cada pocillo utilizando una botella para lavado u otro dispositivo automático. **NOTA: Para obtener mejores resultados, no use una pipeta multicanal para lavar la placa de microensayo.**
 - b. Incubar los pocillos durante un minuto a 15°C a 25°C.
 - c. Aspirar el contenido de cada pocillo.
 - d. Añadir 300 µL de Solución de Lavado a cada pocillo.
 - e. Aspirar el contenido de cada pocillo.
 - f. Repetir los pasos d-e una vez más, para un total de tres lavados.**
 - g. Invertir la placa y golpear sobre papel absorbente para eliminar cualquier líquido restante.
3. Añadir 100 µL de Diluyente de Muestras, Calibradores y Controles reconstituidos, o muestras diluidas a los pocillos asignados.
4. Incubar a 15°C a 25°C durante 30 ± 1 minutos.
5. Lavar los pocillo un total de 5 veces utilizando el siguiente procedimiento:
 - a. Aspirar el contenido de cada pocillo.
 - b. Añadir 300 µL de Solución de Lavado a cada pocillo. **NOTA: Para obtener mejores resultados, no use una pipeta multicanal para lavar la placa de microensayo.**
 - c. Incubar los pocillos durante 1 minuto a 15°C a 25°C.
 - d. Aspirar el contenido de cada pocillo.
 - e. Añadir 300 µL de Solución de Lavado a cada pocillo.
 - f. Aspirar el contenido de cada pocillo.
 - g. Repetir los pasos e-f tres veces más.**
 - h. Después del quinto ciclo de lavado, invertir la placa y golpear sobre papel absorbente para eliminar cualquier líquido restante.
6. Dispensar 50 µL de Conjugado Bb en cada pocillo, incluyendo los pocillos en blanco (Diluyente de Muestras), usando una pipeta multicanal o pipeta de repetición.
7. Incubar a 15°C a 25°C durante 30 ± 1 minutos.
8. Lavar los pocillos de la microplaca después de 30 minutos de incubación (paso 7), como se describe en el paso 5. **NOTA: Para obtener mejores resultados, no use una pipeta multicanal para lavar la placa de microensayo.**
9. Inmediatamente después del proceso de lavado, dispensar 100 µL de Solución de Sustrato TMB en cada pocillo, incluyendo los pocillos en blanco. **NOTA: El Sustrato TMB se debe proteger de la luz durante su conservación e incubación. El Sustrato TMB no se debe dispensar en el recipiente de reactivo ni en otro aparato donde pueda haber exposición a la luz hasta inmediatamente antes de dispensarlo en los pocillos del microensayo.**
10. Incubar a 15°C a 25°C durante 15 ± 1 minutos en la oscuridad.
11. Añadir 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 que la Solución de Sustrato.
12. Dar un golpecito en la placa par que el color se distribuya homogéneamente.
13. Determinar la absorbencia a 450 nm de cada pocillo antes de una hora de la adición de la Solución de Parada (paso 11), realizando la corrección del pocillo en blanco de acuerdo con el sistema espectrofotométrico utilizado.

14. Tirar el resto de muestras diluídas, Controles, Sustrato y las tiras utilizadas (ver *PELIGROS Y PRECAUCIONES*).

CONTROL DE CALIDAD

El Certificado de Análisis incluido en este kit es lote-específico y debe ser utilizado para la verificación de que los resultados obtenidos por su laboratorio son similares a los obtenidos por Quidel Corporation. Los valores de densidad óptica suministrados son simplemente una guía. Los resultados obtenidos por su laboratorio pueden diferir.

Los rangos de Control de Calidad han sido proporcionados. Los valores de control verifican la validez de la curva y los resultados de las muestras. Cada laboratorio debe establecer sus propios parámetros para los límites aceptables de la técnica. Si el control no está dentro de los valores de aceptación de su laboratorio, los resultados deben ser considerados como cuestionables, y las muestras deben ser repetidas.

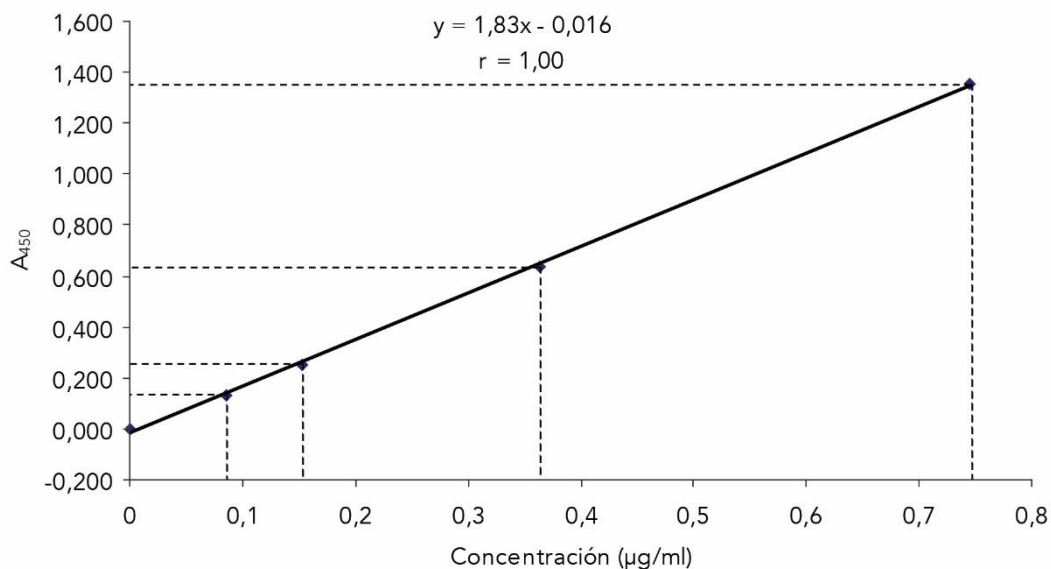
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Utilización de una Curva de Calibración

La curva de calibración para Bb EIA es generada restando los valores de absorbancia del blanco (A_{450}) a cada calibrador (en el eje y) y la concentración asignada para cada calibrador (en el eje x). Después de la regresión lineal, la curva generada debe cumplir los criterios de validación (ver abajo). Muchos ordenadores y calculadoras son capaces de realizar estos cálculos.

Un ejemplo de una curva típica de calibración se muestra en la Figura 1.

Figura 1.
Curva de Calibración Representativa



Cálculo de la Concentración de Bb de las Muestras

La concentración Bb presente en cada muestra sin diluir se determina multiplicando la concentración de Bb/mL, determinada de la Curva de Calibración del kit, por el inverso del factor de dilución aplicado. Si los valores de absorbancia obtenidos de una muestra son superiores a los del Calibrador más alto del kit (E), los resultados deben reportarse como “superior a” la concentración Bb del Calibrador (E) multiplicado por el factor de dilución de la muestra. En todas las repeticiones de la técnica, los Calibradores y los Controles deben también ser procesados.

VALIDACIÓN

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

Coeficiente de correlación (r): > 0,96
pendiente (m): entre 1,094 y 2,558
Intercepción Y (b): entre (-) 0,145 y 0,113

Consulte el certificado de análisis para conocer el rango de concentración de Bb aceptable para los controles alto y bajo.

LIMITACIONES

El inmunoensayo enzimático MicroVue Bb Plus has sido utilizado para analizar muestras recogidas como suero o plasma en EDTA. Heparina plasma NO se recomienda para esta técnica. Otros anticoagulantes no han sido probados.

FUNCIONAMIENTO DEL ENSAYO

Límites

LOD: El límite de detección (LOD) para la técnica Bb Plus es 0,018 µg/mL, determinada por el límite de 3SD en el estudio del calibrador cero.

LLOQ: El límite inferior de cuantificación (LLOQ) para la técnica Bb Plus es 0,033 µg/mL, la concentración más baja de la curva de calibración que cumple los criterios de NCCLS.

ULOQ: El límite superior de cuantificación (ULOQ) para la técnica Bb Plus es 0,836 µg/mL, la concentración más elevada que cumple los criterios de NCCLS.

Interferencias

Na⁺ Heparina a 14 U/mL (concentración de los tubos de plasma-Heparina) interfiere con la técnica Bb Plus y no está recomendada para su utilización como anticoagulante en la recolección de las muestras.

Las siguientes sustancias fueron analizadas con las concentraciones especificadas en el ensayo de Bb Plus y no se comprobaron interfieren con el ensayo:

Sustancia	Concentración
Bilirubina	40 mg/dL
Hemoglobina	500 mg/dL
Los Triglicéridos	3000 mg/dL
Albumina	6000 mg/dL
Glucosa	1200 mg/dL
Colesterol	500 mg/dL

Precisión

La precisión Intra-ensayo y Inter-ensayo fue determinada con 20 réplicas de 2 muestras de plasma y 2 muestras de suero en 10 ciclos diferentes.

Muestra	Bb (µg/mL)	Intra-ensayo ¹	Inter-ensayo ²
		C.V. (%)	C.V. (%)
EDTA Plasma	1,550	2,4	7,7
	0,517	2,5	6,7
Suero	2,129	3,1	6,2
	2,375	4,0	9,1

¹n = 20 réplicas ²n = 10 ciclos

Linealidad

La linealidad fue determinada por la dilución seriada de muestras y comparando los valores observados y esperados. Resultados típicos proveídos en seguida:

Muestra	Factor de Dilución	Observado Bb (µg/mL)	Esperado Bb (µg/mL)	Recuperación (%)
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%
Suero 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%
Suero 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%

VALORES DE MUESTRAS

EDTA plasma de treinta y seis (36) donantes y suero de cuarenta y nueve (49) donantes normales fueron probados con el kit de inmunoensayo enzimático MicroVue Bb Plus. Los resultados se presentan abajo.

	n	Media (µg/mL)	RANGO (µg/mL)	
			± 2 SD	± 3 SD
EDTA Plasma	36	0,96	0,49-1,42	0,26-1,65
Suero	49	3,53	0,80-6,26	0,0-7,62

Nota: El comportamiento de la media y la Desviación Estandar (SD) de las concentraciones del fragmento Bb determinada de muestras de plasma y suero pueden variar entre laboratorios. Se recomienda que cada laboratorio determine la media y la desviación estandar de las concentraciones de fragmento Bb

ASISTENCIA

Para hacer un pedido u obtener servicio técnico, comuníquese con un representante de Quidel al 800.874.1517 (en los Estados Unidos) o al 858.552.1100 (fuera de los Estados Unidos), de lunes a viernes,

de 8:00 a. M. A 5:00 p. M., hora de la costa este. También pueden realizarse pedidos por fax al 740.592.9820. Para solicitar asistencia por correo electrónico, envíe un correo electrónico a customerservice@quidel.com o a technicalsupport@quidel.com.

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

REFERENCIAS

1. 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.
2. Gotze, O. and Müller-Eberhard, H.J. 1976. The alternative pathway of complement activation. *Adv. Immunol.* 24:1.
3. 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
4. Pangburn, M.K. and Müller-Eberhard, H.J. 1984. The alternative pathway of complement. *Springer Semin Immunopathol* 7:163.
5. 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.
6. 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. Pawluczkowycz, 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



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



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

PIA027003ES00 (09/21)

GLOSARIO

REF

Número del catálogo



Marca CE de conformidad

EC REP

Representante autorizado
en la Comunidad Europea

LOT

Código de lote



Fecha de caducidad



Fabricante



Limites de temperatura



Indicaciones



Consulte los instrucciones
e-etiquetado de uso



Riesgo biológico

IVD

Para uso diagnóstico *in vitro*



Contiene una cantidad suficiente para
96 determinaciones

CONT

Contenido / Contiene

CONTROL

Control
