



# MicroVue™ Complement

SC5b-9 Plus EIA

## Enzimoimmunoensayo para la cuantificación del complejo SC5b-9 presente en plasma o suero humanos

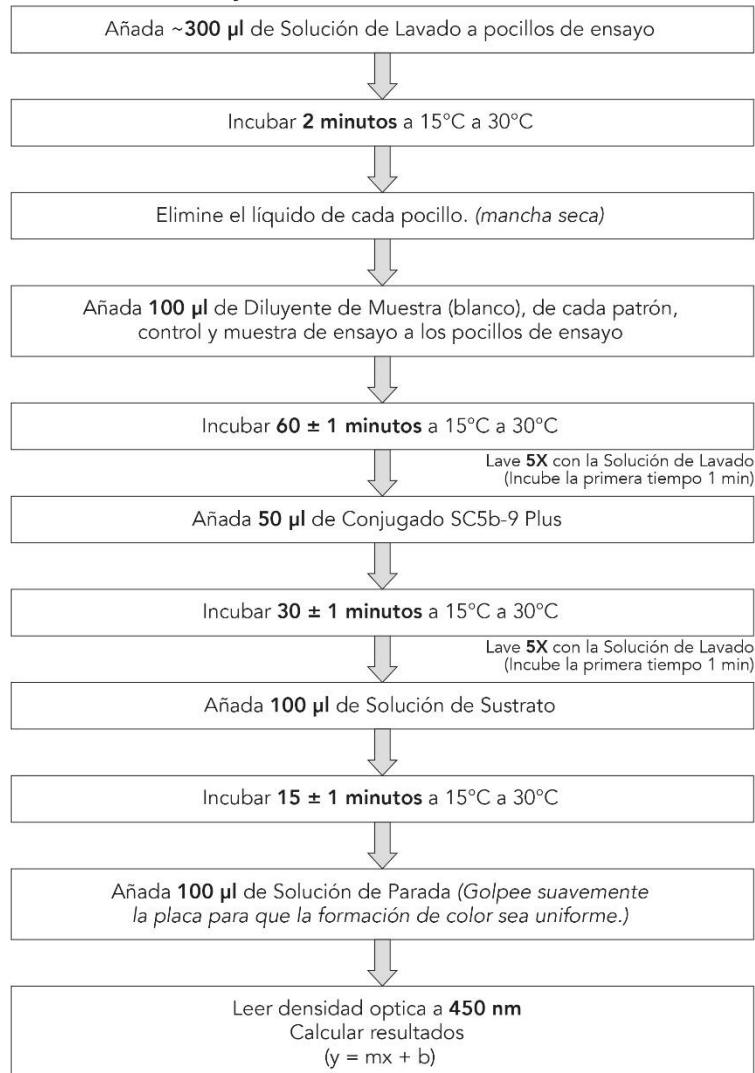
Para uso diagnóstico *in vitro*. Solo para exportación.  
No apto para la venta o uso en Estados Unidos o Canadá.

### RESUMEN

#### Preparación del Reactivo y de la Muestra

- Diluya el Concentrado de Solución de Lavado 1:20 con agua desionizada.
- Diluya las muestras de suero 1:40 en el diluyente de muestras suministrado (e.g. 10  $\mu$ l + 390  $\mu$ l).
- Diluya las muestras de plasma 1:10 en el diluyente de muestras suministrado (e.g. 50  $\mu$ l + 450  $\mu$ l).

#### Procedimiento de ensayo





## USO PREVISTO

El ensayo inmunoenzimático SC5b-9 Plus de MicroVue mide la cantidad de complejo SC5b-9 presente en muestras de plasma o suero humanos.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El complejo de complemento terminal (CCT, SC5b-9) se genera por la unión de C5 a C9 como consecuencia de la activación del sistema de complemento por la vía clásica, lectina, o una vía alternativa.<sup>1</sup> El complejo de ataque de membrana (CAM), una forma de CCT, es un complejo estable que media el daño irreversible en la membrana celular asociado con la activación del complemento.<sup>1-4</sup> Los complejos formados en la ausencia de una membrana de destino se unen a proteínas de suero regulatorias de ocurrencia natural, como por ejemplo la proteína S,<sup>5-7</sup> en la etapa C5b-7 de unión formando CCT soluble no lítico.<sup>1,5</sup> A los efectos de este documento, nos referiremos a todas las formas estables del complejo de complemento terminal como CCT o SC5b-9 de manera indistinta, aunque reconocemos que otras proteínas regulatorias del complemento, como la clusterina, también forman estos complejos estables y pueden detectarse en el ensayo SC5b-9 Plus.

El ensayo inmunoenzimático SC5b-9 Plus de MicroVue mide la concentración de CCT, lo cual indica el estado de la vía de complemento terminal en la muestra. Utiliza un anticuerpo monoclonal contra el anillo C9 de CCT para capturar el complejo. El CCT atrapado es detectado posteriormente con anticuerpos conjugados en HRP que se unen a los antígenos del complejo SC5b-9. Este ensayo, que proporciona un procedimiento cuantitativo rápido y altamente específico para medir los niveles de CCT está diseñado para estudios de la función o estado de la vía de activación de complemento terminal en numerosas situaciones de investigación y para la monitorización de la generación de complejos SC5b-9 *in vivo* o *in vitro*. Los niveles de CCT son indicativos del nivel de activación del complemento en la muestra. Se han comprobado niveles elevados de activación de complemento en diferentes enfermedades, entre ellas lupus eritematoso sistémico (LES) y otras enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide y dificultad respiratoria aguda, así como durante enfermedades inflamatorias como infarto del miocardio y accidente cerebrovascular.

## PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo inmunoenzimático SC5b-9 Plus de MicroVue para la cuantificación de SC5b-9 en suero o plasma humanos o en muestras experimentales es un procedimiento de tres pasos que utiliza (1) una placa de microensayo recubierta con un anticuerpo monoclonal de ratón que se une específicamente al anillo C9 de SC5b-9, (2) anticuerpos contra los antígenos de SC5b-9 conjugados con HRP y (3) un sustrato cromogénico.

En el primer paso, se añaden patrones, controles y muestras de ensayo a los pocillos de microensayo previamente recubiertos con un anticuerpo anti-SC5b-9 monoclonal específico. El SC5b-9 presente en los patrones, controles o muestras se unirá al anticuerpo anti-SC5b-9 inmovilizado. Después de la incubación, un ciclo de lavado elimina el material no unido. Las proteínas constituyentes del CCT, incluida C9, no se unen a este anticuerpo y son eliminadas durante el ciclo de lavado.

En el segundo paso, se añaden anticuerpos contra antígenos de SC5b-9 conjugados en peroxidasa de rábano (HRP) a cada pocillo de ensayo. Los anticuerpos conjugados enzimáticos se unen al SC5b-9 capturado por el anticuerpo anti-SC5b-9 monoclonal unido sobre la superficie de los pocillos de microensayo. Después de la incubación, un ciclo de lavado elimina el conjugado no unido.

En el tercer paso, se añade un sustrato enzimático cromogénico a cada pocillo de microensayo. El conjugado de HRP unido reacciona con el sustrato y forma un color azul. Después de la incubación, se añade un reactivo para detener la coloración, lo que da como resultado un color amarillo. Se miden las absorbancias del patrón, control y de las muestras de ensayo (valores  $A_{450}$ ) mediante espectrofotometría. La intensidad del color de la mezcla de reacción es proporcional a la concentración de SC5b-9 (CCT) presente en las muestras, patrones y controles del ensayo.

## REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

### 96 ensayos para complejo SC5b-9

El kit de inmunoensayo SC5b-9 Plus de MicroVue contiene lo siguiente:

<b>A</b>	<b>Patrones SC5b-9 Plus</b>	<b>Cód. A9958-62</b>	<b>5 x 1,5 ml</b>
<b>B</b>	Contiene suero humano con cantidades conocidas de SC5b-9 en PBS, estabilizadores proteicos,		
<b>C</b>	conservantes		
<b>D</b>			
<b>E</b>			
<b>H</b>	<b>Controles alto/bajo</b>	<b>Cód. A9581, A9582</b>	<b>2 X 1,5 ml</b>
<b>L</b>	Contiene plasma humano con un nivel alto/bajo de complejos SC5b-9, conservantes		
<b>1</b>	<b>Tiras recubiertas</b>	<b>Cód. A3840</b>	<b>12 unidades</b>
	Tiras de ocho pocillos recubiertas con un anticuerpo monoclonal de ratón específico al SC5b-9 humano en una bolsa de papel de aluminio resellable		
<b>2</b>	<b>Solución de parada</b>	<b>Cód. 4978</b>	<b>12 ml</b>
	Contiene 2N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		
<b>3</b>	<b>Concentrado de solución de lavado 20X</b>	<b>Cód. A9957</b>	<b>2 x 50 ml</b>
	Contiene solución salina tamponada de fosfato (PBS), Tween-20® al 0,05% y Proclin® 300		
<b>4</b>	<b>Diluyente de muestras</b>	<b>Cód. A3670</b>	<b>50 ml</b>
	Contiene PBS, estabilizadores proteicos Tween-20 al 0,05%, Proclin 300 al 0,035%		
<b>5</b>	<b>Sustrato de TMB</b>	<b>Cód. A9946</b>	<b>12 ml</b>
	Sustrato de peróxido y 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) listo para usar		
<b>6</b>	<b>Conjugado SC5b-9 Plus</b>	<b>Cód. A9577</b>	<b>7 ml</b>
	Contiene anticuerpos (de cabra) contra antígenos de SC5b-9 conjugados en peroxidasa de rábano		

Tween-20® es un marca registrada de ICI Americas Inc.

ProClin® es un marca registrada de Rohm and Haas Company.

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Cronómetro (de 60 minutos)
- Calculadora u otro método de cálculo para validar el ensayo
- Placas de microensayo limpias y sin usar y/o tubos de ensayo y portatubos
- Recipiente para dilución del tampón de lavado
- Botella para lavado u otro sistema de lavado para inmunoensayo
- Pipeta multicanal ajustable (8 ó 12 canales) o micropipetas de repetición (opcionales)
- Pipetas limpias de 1 ml, 5 ml y 10 ml
- Micropipetas y puntas de pipeta
- Lector de placas apto para valores de densidad óptica de 0,0 a 2,0
- Agua desionizada o destilada
- Aunque no es necesario, se recomienda utilizar un lector de placas con capacidad de automezclado.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Trate las muestras como material potencialmente biopeligroso. Respete las precauciones universales al manipular el contenido de este kit y las muestras de los pacientes.
- Use los reactivos suministrados como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Guarde los reactivos de ensayo según lo indicado.
- No emplee las tiras recubiertas si la bolsa está pinchada.

- El ProClin 300 se utiliza como conservante. El contacto o la ingestión accidentales de tampones o reactivos que contienen ProClin pueden provocar irritación en la piel, los ojos o la boca. Utilice buenas prácticas de laboratorio para reducir la exposición. Busque atención médica en caso de experimentar estos síntomas.
- La solución de parada para el ensayo de este producto es 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Evite el contacto con los ojos, la piel y la ropa. En caso de contacto, lave inmediatamente el área afectada con agua.
- Cada unidad donante utilizada en la preparación de las muestras y sueros de control de este producto fue analizada con un método aprobado por la FDA para detectar la presencia de anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH1 y VIH2) y contra el virus de la hepatitis C y antígenos de superficie de la hepatitis B. Debido a que ningún método puede garantizar totalmente que no hay agentes infecciosos, estos reactivos deben manipularse a un nivel de bioseguridad 2, como cualquier suero humano o muestra de sangre potencialmente infecciosos, según se recomienda en el manual de los Centers for Disease Control/National Institutes of Health "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2007.
- Es fundamental recoger y almacenar de forma adecuada las muestras de ensayo para obtener resultados precisos (vea la sección *RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS*).
- Evite la contaminación microbiana o cruzada de las muestras o reactivos.
- No utilice un pocillo de microensayo para más de un ensayo.
- Descontamine todas las muestras, reactivos y materiales dejándolos en remojo durante 30 minutos como mínimo en una solución 1:10 de lejía de uso doméstico (hipoclorito sódico) o procéselos en el autoclave a 121°C durante 30 minutos a una presión de 15 psi.
- El uso de tiempos y temperaturas de incubación que no sean los indicados en la sección Procedimiento de ensayo puede dar resultados erróneos.
- **El sustrato de TMB debe protegerse de la luz durante su almacenamiento e incubación.** Evite el contacto con los ojos, la piel y la ropa. En caso de contacto, lave inmediatamente el área afectada con agua.
- No permita que los pocillos de microensayo se sequen una vez iniciado el ensayo.
- Al eliminar líquidos de los pocillos de microensayo, no raspe ni toque el fondo de los pocillos.
- Las muestras inactivadas por calor pueden dar resultados erróneos.
- Las muestras hiperlipémicas o contaminadas pueden dar resultados erróneos.
- Para evitar la formación de aerosoles durante el lavado, utilice un aparato para aspirar el líquido de lavado al interior de un frasco que contenga lejía de uso doméstico.
- **Utilice una botella para lavado o un dispositivo de llenado automático para lavar la placa (PROCEDIMIENTO DE ENSAYO, Paso 8). Para obtener los mejores resultados, no utilice una pipeta multicanal para lavar la placa de microensayo.**
- 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](http://quidel.com).

## CONSERVACIÓN

Conserve el kit sin abrir a 2°C a 8°C. Deje que los reactivos y los materiales se estabilicen a 15°C a 30°C antes de su uso. Vuelva a colocar las tiras no requeridas en la bolsa de conservación, séllela y guárdela a 2°C a 8°C.

## RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

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

Es fundamental recoger, procesar y almacenar las muestras de forma adecuada ya que el SC5b-9 puede generarse en muestras mal manipuladas debido a la activación del complemento por factores espurios.

Los valores normales para las muestras de suero son típicamente más altos que los obtenidos con muestras de plasma EDTA o plasma normal citratado. En consecuencia, los niveles de SC5b-9 en plasma EDTA o plasma citratado pueden representar con más exactitud las concentraciones *in vivo*.

Las muestras de suero o EDTA o plasma citratado deben recogerse mediante técnicas asépticas convencionales. Las muestras deben analizarse de inmediato o guardarse a 4°C o sobre hielo hasta cuatro horas antes de analizarlas.

Si una muestra no puede analizarse dentro de las cuatro horas según las pautas antes detalladas, debe congelarse a -70°C o menos.

También puede utilizarse una **Solución Estabilizadora de la Muestra** (Código A9576) para preparar las muestras de suero y plasma humanos para su conservación. Este producto es exclusivo de Quidel y requiere mezclar la muestra con la solución en una proporción 1:1 antes de congelarla. Si lo desea, puede solicitar información técnica adicional sobre esta solución.

Descongele rápidamente las muestras a 37°C hasta que estén apenas descongeladas. Coloque inmediatamente las muestras descongeladas en hielo (durante no más de cuatro horas) para evitar la activación del complemento antes de la dilución. No deje las muestras a 37°C, ya que puede producirse la activación del complemento. No descongele las muestras a temperatura ambiente o a 4°C ya que puede producir la activación del complemento. Las muestras deben analizarse lo antes posible una vez descongeladas. Se recomienda no congelar y descongelar la muestra varias veces. 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.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

**Deje que todos los reactivos y materiales se estabilicen a 15°C a 30°C antes de su uso.**

Tras retirar los reactivos y materiales necesarios, vuelva a guardar los elementos no utilizados a las temperaturas de conservación correspondientes (vea la sección *CONSERVACIÓN*).

Los patrones y controles no requieren dilución ni preparación antes de su uso.

### Solución de lavado

Mezcle el concentrado de solución de lavado 20X invirtiendo el frasco varias veces. Si el concentrado de solución de lavado 20X se ha guardado a una temperatura de 2°C a 8°C, es posible que se hayan formado cristales. Para disolver los cristales, caliente el frasco en un baño de agua de 37°C a 50°C hasta que todos los cristales se hayan disuelto y, a continuación, mézclelo bien. Prepare la solución de lavado diluyendo todo el contenido de uno de los frascos de concentrado de solución de lavado 20X, hasta un litro, con agua destilada o desionizada. Mezcle bien. La solución de lavado es estable durante 30 días si se conserva en un recipiente limpio a 2°C a 8°C. En caso de decoloración o turbidez, deseche el reactivo.

### Selección de las tiras de microensayo

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

## Dilución de muestras

**Atención:** trate todas las muestras como si fueran potencialmente peligrosas. Siga las precauciones universales. No utilice muestras inactivadas por calor, contaminadas o mal conservadas.

**Nota:** lea en la sección **Recogida y conservación de muestras** las notas importantes sobre los métodos adecuados para descongelar las muestras. Es fundamental la correcta manipulación de las muestras para obtener resultados exactos.

Quidel recomienda diluir las muestras de plasma normales en una proporción 1:10 en el diluyente de muestras suministrado; las muestras de suero deben diluirse en una proporción de 1:40. Puede requerirse una dilución de 1:200 o mayor para muestras con altos niveles de SC5b-9. Las muestras **deben** diluirse para que los valores de  $A_{450}$  observados estén por encima del LLOQ y no superen el valor  $A_{450}$  del patrón E del kit SC5b-9 Plus. Se recomienda volver a analizar con una nueva dilución las muestras cuyos valores de  $A_{450}$  estén fuera de este intervalo.

Determine el número (N) de muestras que someterá a ensayo. Identifique los tubos de ensayo con etiquetas con números del 1 al N y anote qué muestra corresponde a cada tubo. Prepare una dilución adecuada (vea el párrafo anterior) de cada muestra utilizando el diluyente de muestras. Mezcle bien pero evite la formación de espuma y burbujas. No guarde ni vuelva a utilizar las muestras diluidas.

## Incorporación de las muestras diluidas a los pocillos de microtitulación

Puede utilizarse uno de dos métodos para incorporar las muestras diluidas, los patrones, los controles y el tampón a los pocillos (vea el paso 6 del *PROCEDIMIENTO DE ENSAYO*). Para ciclos de ensayo pequeños en los que sólo se analiza una pequeña cantidad de muestras, las muestras diluidas y otros reactivos pueden añadirse directamente a los pocillos asignados con una micropipeta (100 µl/pocillo). En el caso de ciclos pequeños o grandes, especialmente en estos últimos, recomendamos el uso de un pipetero multicanal para añadir las muestras como se indica a continuación. **(Este último procedimiento también puede utilizarse para facilitar la incorporación del conjugado, la solución de sustrato y la solución de parada.)**

A fin de cargar los patrones, controles y muestras diluidas en los pocillos de microensayo lo más rápidamente posible, puede utilizarse un procedimiento de "réplica en placas". En lugar de añadir 100 µl de cada patrón, control o muestra diluida a los pocillos recubiertos con anticuerpos de forma individual, pueden añadirse 120 µl a 130 µl de cada solución a pocillos individuales en una placa testigo (no suministrada) correspondiente al patrón de enzoinmunoensayo final deseado. Una vez incorporadas a los pocillos de microensayo de la placa testigo todas las soluciones que se desean someter a ensayo, transfiera rápidamente 100 µl de cada pocillo testigo a los pocillos recubiertos con anticuerpos utilizando un micropipetero multicanal. Para evitar la posibilidad de contaminación cruzada, deben cambiarse las puntas de la pipeta cada vez que cambie la composición de las muestras que se desean transferir.

## PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

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

Vea la sección *PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS* y *ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES*.

1. Tome nota de las posiciones de los pocillos de microensayo correspondientes a los pocillos testigo, a las muestras de ensayo, a los patrones y a los controles, así como los números de lote que figuran en las etiquetas de los viales. Marque una esquina de la placa de microensayo a modo de orientación.
2. Prepare las tiras de microensayo de la siguiente forma:
  - a. Rehidrate los pocillos de microensayo añadiendo aproximadamente 300 µl de solución de lavado a cada pocillo utilizando una botella para lavado o un dispositivo de llenado automático.
  - b. Incube a 15°C a 30°C durante dos minutos.
  - c. Elimine el líquido de cada pocillo.

- d. Invierta la placa y golpéela con fuerza sobre papel absorbente dos veces para eliminar el líquido restante.
3. Seleccione uno o más pocillos para utilizar como pocillo testigo. Añada 100 µl de diluyente de muestras de complemento a los pocillos testigo que se utilizarán con el lector de placa.
4. Añada 100 µl de cada patrón SC5b-9 (A, B, C, D, E) a los pocillos correspondientes por duplicado. **Nota: los patrones ya se han diluido y están listos para usar.**
5. Añada 100 µl de control alto de SC5b-9 y control bajo de SC5b-9 a los pocillos por duplicado. **Nota: los controles ya se han diluido y están listos para usar.**
6. Añada 100 µl de cada muestra diluida al pocillo de microensayo asignado. (Vea la sección PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS, Dilución de muestras.)
7. Incube a 15°C a 30°C durante 60 ± 1 minutos.
8. Lave los pocillos de microensayo como se indica a continuación:
  - a. Después de la incubación del paso 7 (o del paso 10 a continuación), elimine el líquido de cada pocillo.
  - b. Añada aproximadamente 300 µl de solución de lavado a cada pocillo utilizando una botella para lavado o un dispositivo de llenado automático.
  - c. Incube los pocillos durante 1 minuto a 15°C a 30°C.
  - d. Elimine el líquido de cada pocillo.
  - e. Añada aproximadamente 300 µl de solución de lavado a cada pocillo.
  - f. Elimine el líquido de cada pocillo.
  - g. Repita los pasos e-f tres veces más.**
  - h. Después del quinto ciclo de lavado, invierta la placa y golpéela con fuerza sobre papel absorbente dos veces para eliminar todo el líquido restante.
9. Utilizando una pipeta multicanal o de repetición, aplique 50 µl de conjugado de SC5b-9 en cada pocillo de ensayo lavado, incluyendo los pocillos testigo.
10. Incube las tiras de microensayo a 15°C a 30°C durante 30 ± 1 minutos.
11. Lave los pocillos de microensayo después de la incubación de 30 minutos del paso 10, tal como se describe en la sección *PROCEDIMIENTO DE ENSAYO*, paso 8.
12. Inmediatamente después del procedimiento de lavado, aplique 100 µl de la solución de sustrato a cada pocillo, incluyendo los pocillos testigo.
13. Incube las tiras de microensayo a 15°C a 30°C durante 15 (± 1) minutos.
14. Añada 100 µl de solución de parada a cada pocillo para detener la reacción enzimática. La solución de parada debe añadirse a los pocillos en el mismo orden y a la misma velocidad que la solución de sustrato. Golpee suavemente la placa para que la formación de color sea uniforme. **Nota: Para obtener resultados óptimos utilice la función de automezclado del lector de placas (si se encuentra disponible) inmediatamente antes de leer cada placa.**
15. Determine el valor de absorbancia a 450 nm (valor  $A_{450}$ ) para cada pocillo de ensayo dentro de 30 minutos después de añadir la solución de parada (paso 14), realizando la corrección en blanco necesaria.
16. Determine la concentración de las muestras y los controles a partir de la curva estándar.
17. Deseche las muestras y controles diluidos restantes y las puntas de microensayo usadas (vea la sección *ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES*).

## CONTROL DE CALIDAD

Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles para asegurarse de que el ensayo funciona correctamente. Cada kit SC5b-9 Plus contiene controles altos y bajos que pueden utilizarse para este propósito. Se proporcionan los intervalos de control de calidad. Los valores de control están diseñados para verificar la validez de la curva y los resultados de las muestras. Cada laboratorio debe establecer sus propios parámetros para determinar los límites de análisis aceptables. Si los valores de control NO están dentro de los límites de aceptación de su laboratorio, los resultados del ensayo deben considerarse dudosos y deberán volver a analizarse las muestras. Asimismo, el prospecto del producto requiere que la curva estándar generada con los patrones del kit cumplan con estrictos requisitos de validación. Si el ensayo no cumple con estos requisitos, repítalo o póngase en contacto con el Servicio técnico de Quidel.

El certificado de análisis incluido en este kit es específico a este lote y debe emplearse para comprobar que los resultados obtenidos por su laboratorio son similares a los obtenidos por Quidel Corporation. Los valores de densidad óptica proporcionados deberán utilizarse únicamente a efectos orientativos. Los resultados obtenidos por su laboratorio pueden ser diferentes.

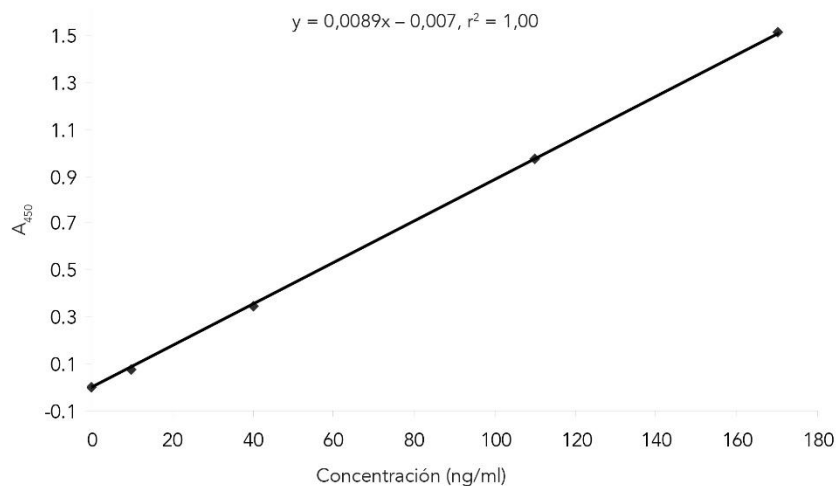
## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### Cálculo de los resultados

**Uso de la curva estándar:** la curva estándar del ensayo de SC5b-9 Plus se genera utilizando el valor  $A_{450}$  sustraído del testigo de cada patrón (en el eje Y) en función de la concentración asignada a cada patrón (en el eje X). Después de la regresión lineal, la curva estándar generada debe cumplir con los requisitos de validación (ver más abajo). La mayoría de los ordenadores y calculadoras es capaz de realizar estos cálculos.

Como alternativa, pueden representarse gráficamente los datos de forma manual y los valores ( $\mu\text{g/ml}$ ) de las muestras de ensayo pueden leerse directamente de la línea de ajuste óptimo de la curva estándar. En la Figura 1 se muestra un ejemplo de una curva estándar típica.

**Figura 1**  
**Curva representativa estándar**



Muestra	$A_{450}$	ng/ml
Patrón A	0	0
Patrón B	0,079	10
Patrón C	0,347	40
Patrón D	0,975	110
Patrón E	1,512	170

### Cálculo de la concentración real de SC5b-9 en las muestras

La concentración asignada del certificado de análisis son unidades absolutas del complejo SC5b 9. La concentración de SC5b-9 en una muestra se determina multiplicando la concentración determinada por el factor de dilución de muestra adecuado. Por ejemplo, si se diluye una muestra de plasma EDTA en una proporción de 1:10 para el ensayo y la curva de regresión lineal da una concentración de 20  $\mu\text{g}$  SC5b-9/ml, la concentración de SC5b-9 en la muestra sería de 200  $\mu\text{g}$  SC5b-9/ml (o  $20 \times 10$ ).

A fin de obtener determinaciones de la concentración de SC5b-9 precisas para muestras de ensayo que dan valores  $A_{450}$  superiores a los del patrón E del SC5b-9 (o que dan valores  $A_{450}$  inferiores al LLOQ), las



muestras pueden volver a analizarse a una dilución diferente para que sus nuevos valores  $A_{450}$  se encuentren dentro de estos límites. En todos los ensayos repetidos también deben analizarse los patrones y los controles de SC5b-9.

## Validación

Determine la pendiente, intersección y coeficiente de correlación de la línea de ajuste óptimo derivada para los patrones A, B, C, D y E de SC5b-9. Los valores deben encontrarse dentro de los intervalos especificados para aprobar el ensayo:

---

coeficiente de correlación (r): > 0,95
pendiente (m): 0,0039 a 0,0123
intersección Y (b): (-)0,189 a (+)0,201

---

Consulte el certificado de análisis para conocer el rango de concentración de SC5b-9 aceptable para los controles bajo y alto.

## LIMITACIONES

El enzimoimmunoensayo de SC5b-9 Plus de MicroVue se ha utilizado para analizar muestras recogidas como suero o plasma en EDTA y citrato. No se han analizado otros anticoagulantes.

## VALORES DE MUESTRAS

Se analizó el suero y el plasma con EDTA de cuarenta (40) donantes normales con el kit para inmunoensayo enzimático SC5b-9 Plus. Los resultados se presentan a continuación:

	n	Media (ng/ml)	Intervalo: $\pm 2$ DE (ng/ml)
Plasma con EDTA	40	147	De 75 a 219
Suero	40	356	De 187 a 525

**NOTA:** el valor medio y la desviación estándar (DE) de las concentraciones del complejo SC5b-9, determinadas para las muestras de plasma o suero, pueden variar entre laboratorios. Por tanto, se recomienda que cada laboratorio determine sus propios intervalos normales. Los valores proporcionados anteriormente se deben considerar exclusivamente como referencia.

## RENDIMIENTO DE LA PRUEBA

### Limites

**LOD:** El límite de detección analítica del ensayo SC5b-9 Plus es de 3,7  $\mu\text{g/ml}$ , determinado por el límite superior de DE 3 en un estudio de patrón cero.

**LLOQ:** El límite de cuantificación inferior del ensayo SC5b-9 es de 8,8  $\mu\text{g/ml}$ , la concentración más baja en la curva estándar que cumplió con los criterios de la NCCLS de exactitud y precisión.

### Sustancias que interfieren

Las siguientes sustancias fueron analizadas con las concentraciones especificadas, y no se comprobaron interferencias con el ensayo.

Substance	Concentration
Bilirubin	40 mg/dl
Hemoglobin	500 mg/dl
Triclycerides	3000 mg/dl
Li + Heparin	14 U/ml
Na + Heparin	14 U/ml
C9 Protein	180 mg/l
Albumin	6000 mg/dl
Glucose	1200 mg/dl
Cholesterol	500 mg/dl

## Precisión

Se determinó la precisión intra-ensayo e inter-ensayo analizando 20 réplicas de 2 muestras de plasma y 2 muestras de suero en 10 ciclos diferentes.

Probe	SC5b-9 (ng/ml)	Intra-ensayo <sup>1</sup> C.V. (%)	Inter-ensayo <sup>2</sup> C.V. (%)
Plasma	139,0	6,8	13,1
	462,9	1,9	5,2
Serum	803,6	2,8	10,4
	1410,6	1,6	5,0

<sup>1</sup>n = 20 réplicas    <sup>2</sup>n = 10 ciclos

## Linealidad

Se realizó la linealidad mezclando una muestra de plasma alto con una muestra de plasma bajo en diferentes proporciones para crear niveles de analito intermedios. La recuperación promedio fue de 94% con un intervalo absoluto de 86% a 104%.

## ASISTENCIA

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

## REFERENCIAS

- Müller-Eberhard, H.J., The Membrane Attack Complex, Springer Seminars in Immunopathology, Vol. 7, p.93, 1984.
- Lachmann, P.J. and Thompson, R.A., Reactive lysis: The complement-mediated lysis of unsensitized cells. II. The characterization of activated reactor as C56 and the participation of C8 and C9. J. Exp. Med., Vol. 131, p.643, 1970.
- Götze, O., and Müller-Eberhard, H.J., Lysis of erythrocytes by complement in the absence of antibody. J. Exp. Med., Vol. 132, p.898, 1970.
- Kolb, W.P., Haxby, J.A., Arroyave, C.M., and Müller-Eberhard, H. J., Molecular analysis of the membrane attack mechanism of complement. J. Exp. Med., Vol. 135, p.549, 1972.
- Kolb, W.P., and Müller-Eberhard, H.J., The membrane attack mechanism of complement. Isolation and subunit composition of the C5b-9 complex, J. Exp. Med., Vol. 141, p.724, 1975.
- Podack, E.R., Kolb, W.P., and Müller-Eberhard, H.J., The C5b-6 complex: formation, isolation, and inhibition of its activity by lipoprotein and the S-protein of human serum. J. Immunol., Vol. 120, p.1841, 1978.
- Podack, E.R. and Müller-Eberhard, H.J., Isolation of human S-protein, of an inhibitor of the membrane attack complex of complement. J. Biol. Chem., Vol. 254, p.9808, 1979.

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

**REF** A029 – MicroVue SC5b-9 Plus 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**

**PIA029002ES00 (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

---