

**En enzymimmunanalyse for kvantifisering av SC5b-9-komplekset i humant plasma eller serum**

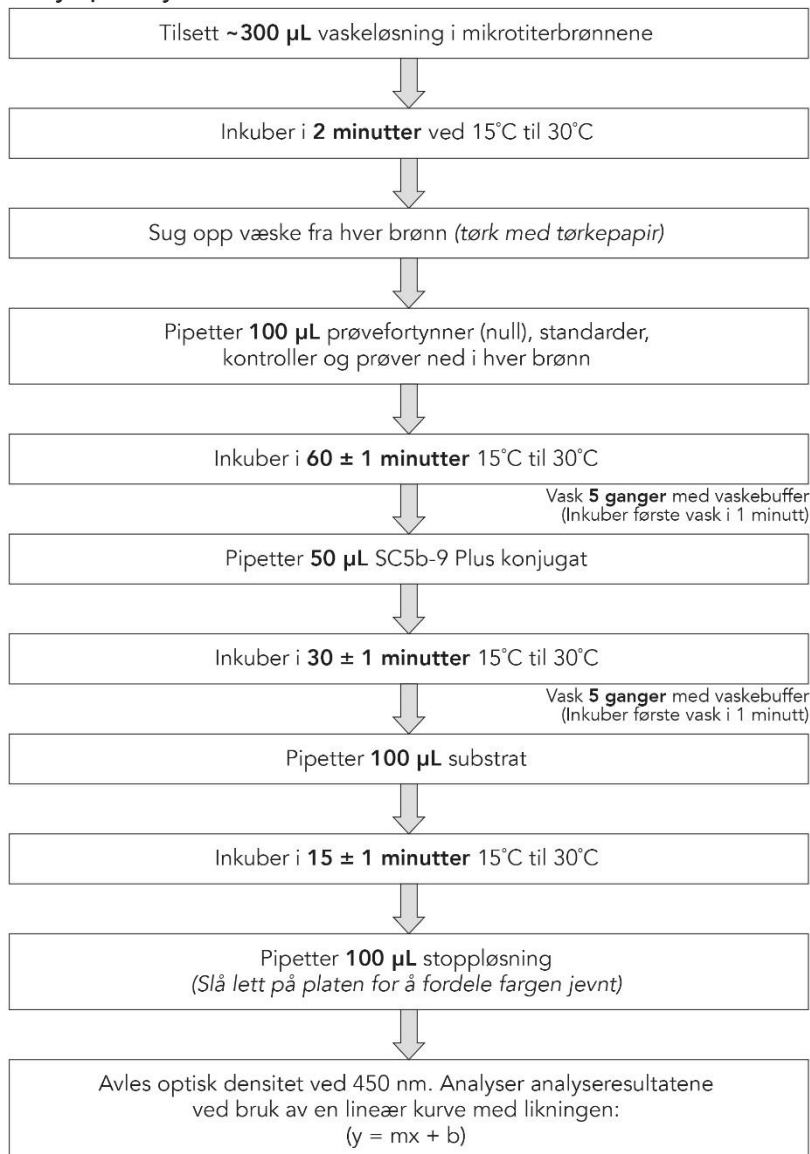
For *in vitro*-diagnostisk bruk. Kun for eksport. Ikke for salg eller bruk i USA eller Canada.

## SAMMENDRAG

### Forberedelse av Reagens og Prøve

- Fortynn konsentrert vaskebuffer 1:20 med destillert eller ikke-ionisert vann.
- Fortynn serumprøver 1:40 med prøvefortynner (eks. 10  $\mu\text{L}$  + 390  $\mu\text{L}$ ).
- Fortynn plasmaprøver 1:10 prøvefortynner (eks. 50  $\mu\text{L}$  + 450  $\mu\text{L}$ ).

### Analyseprosedyre





## BRUKSOMRÅDE

MicroVue SC5b-9 Plus enzymimmunanalysen måler mengden SC5b-9-kompleks som finnes i humane plasma- eller serum-prøver.

### SAMMENDRAG OG FORKLARING

Det terminale komplementkompleks (TCC, SC5b-9) dannes ved sammenkobling av C5 til og med C9 som et resultat av aktivering av komplementsystemet, enten gjennom klassisk vei, lektin eller alternativ vei.<sup>1</sup> Membran attack komplekset (MAC), en form av TCC, er et stabilt kompleks som medierer den irreversible skaden på målcellemembranen, forbundet med aktivering av komplement.<sup>1-4</sup> Komplekser som er dannet i fravær av målcellemembran, binder seg til naturlig forekommende, regulerende serumproteiner, for eksempel S-protein,<sup>5-7</sup> i C5b-7 stadiet av sammenkoblingen, og danner et løselig, ikke-lytisk TCC.<sup>1,5</sup>

Basert på hensikten med dette dokumentet, omtaler vi alle former av stabilt terminalt komplementkompleks omvekslende som TCC og SC5b-9, vel vitende at andre komplementregulerende proteiner, slik som Clusterin, også danner disse stabile kompleksene og kan påvises med SC5b-9 Plus-analysen. MicroVue SC5b-9 Plus enzymimmunanalysen måler konsentrasjonen av TCC, og gir på den måten en indikasjon på status for den terminale komplementvei i prøven. Den benytter seg av et monoklonalt antistoff mot C9-ringen i TCC for å fange komplekset. Det innestengte TCC blir deretter påvist med HRP-konjugerte antistoffer som binder seg til antigener i SC5b-9-komplekset. Denne testen, som er en hurtig, høyst spesifikk metode for kvantitativ måling av TCC-nivåer, er utarbeidet for undersøkelser som går ut på å studere funksjon eller status av aktivering av komplementveier i tallrike forskningsmiljøer, og for å undersøke dannelse av SC5b-9-komplekser *in vivo* eller *in vitro*.

TCC-nivåer viser nivåer for aktivering av komplement i prøven. Høye nivåer av aktivering av komplement er vist i mange forskjellige sykdomstilstander, som systemisk lupus erythematosus (SLE) og andre autoimmune sykdommer, reumatoid artritt, akutt luftveissykdom, og under betennelsessykdommer som hjerteinfarkt og slag.

### PROSEDYREPRINSIPP

MicroVue SC5b-9 Plus enzymimmunanalysen for kvantifisering av SC5b-9 i humant serum, plasma, eller eksperimentelle prøver er en tretrinns prosedyre som bruker (1) en mikrotiterplate dekket med et monoklonalt antistoff (mus) som binder seg spesifikt til C9-ringen i SC5b-9, (2) HRP-konjugerte antistoffer mot antigener i SC5b-9, og (3) et kromogent substrat.

I det første trinnet fordeles standarder, kontroller og prøver som skal testes, i mikrotiterbrønner som på forhånd er dekket med et anti-SC5b-9- spesifikt monoklonalt antistoff. SC5b-9 som finnes i standardene, kontrollene eller prøvene, vil binde seg til det faste anti-SC5b-9. Etter inkubasjon fjernes ubundet materiale med vask. Proteinene i TCC, også C9, binder seg ikke til dette antistoffet, og vaskes vekk.

I det andre trinnet fordeles pepperrotperoksidase (HRP)-konjugerte antistoffer mot antigener i SC5b-9 i hver testbrønn. De enzym-konjugerte antistoffene binder seg til SC5b-9, som er fanget av det monoklonale anti-SC5b-9, som er bundet på mikrotiterbrønnes overflate. Etter inkubasjon vaskes ubundet konjugat vekk.

I det tredje trinnet fordeles et kromogent enzymsubstrat i hver mikrotiterbrønn. Det bundne HRP-konjugatet reagerer med substratet og blir blått. Etter inkubasjon tilsettes en reagens for å avbryte fargeutviklingen, og resultatet blir en gul farge. Absorbansene ( $A_{450}$  verdier) for standard, kontroll og prøve som skal testes måles med spektrofotometer. Fargeintensiteten i reaksjonsblandingen er proporsjonal med konsentrasjonen av SC5b-9 (TCC) som finnes i prøvene som testes, standardene, og kontrollene.

## REAGENSER OG MATERIALE SOM LEVERES

### 96 Analyser for SC5b-9-kompleks

MicroVue SC5b-9 Plus EIA-settet inneholder følgende:

<b>A SC5b-9 Plus standarder</b>	<b>Del A9958-62</b>	<b>5 X 1.5 ml</b>
<b>B</b> Inneholder humant serum som inneholder kjente mengder av SC5b-9 i PBS, proteinstabilisatorer,		
<b>C</b> konserveringsmidler		
<b>D</b>		
<b>E</b>		
<b>H Høye/Lave controller</b>	<b>Del A9581, A9582</b>	<b>2 X 1.5 ml</b>
<b>L</b> Inneholder humant plasma med et høyt/lavt nivå av SC5b-9- komplekser, konserveringsmidler		
<b>1 Dekkede strimler</b>	<b>Del A3840</b>	<b>12 hver</b>
åttebrønners strimler dekket med monoklonalt antistoff (mus) spesifikt for humant SC5b-9 i en foliepose som kan forsegles		
<b>2 Stoppløsning</b>	<b>Del 4978</b>	<b>12 ml</b>
Inneholder 2N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		
<b>3 20X Konsentrert vaskeløsning</b>	<b>Del A9957</b>	<b>2 x 50 ml</b>
Inneholder fosfatbufret saltløsning (PBS), 0.05% Tween-20®, og Proclin® 300		
<b>4 Prøvefortynner</b>	<b>Del A3670</b>	<b>50 ml</b>
Inneholder PBS, 0.05% Tween-20 Proteinstabilisatorer, 0.035% Proclin 300		
<b>5 TMB Substrat</b>	<b>Del A9946</b>	<b>12 ml</b>
Peroksidsubstrat ferdig til bruk og 3,3',5,5'-tetrametylbenzidin (TMB)		
<b>6 SC5b-9 Plus konjugat</b>	<b>Del A9577</b>	<b>7 ml</b>
Inneholder pepperrotperoksidase-konjugerte (geit) antistoffer mot antigener i SC5b-9		

Tween-20® er et registrert varemerke fra ICI Americas Inc.

ProClin® er et registrert varemerke fra Rohm and Haas Company.

## NØDVENDIG MATERIALE SOM IKKE LEVERES

- Signalur (for 60 minutter)
- Kalkulator eller annen datametode til å validere analyseresultater
- Rene, ubrukte mikrotiterplater og/eller prøverør og stativ
- Beholder for fortynning av vaskebuffer
- Vaskeflaske eller annet utstyr for vask av mikrotiterplater
- Justerbar multikanal pipette (8 eller 12 kanaler) eller mikropipetter for flergangsbruk (valgfritt)
- Rene pipetter, 1 ml, 5 ml, og 10 ml
- Mikropipetter og pipette-spisser
- Plateavleser med kapasitet for avlesning av optisk densitet mellom 0.0 og 2.0
- Ikke-ionisert eller destillert vann
- Selv om det ikke er påkrevet, anbefales bruk av en automatisk plateavleser.

## ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Til *in vitro*-diagnostisk bruk.
- Håndter prøvemateriale som potensielt smittefarlige. Følg generelle forholdsregler når du håndterer innholdet i dette settet og alle pasientprøvene.
- Bruk de reagensene som er levert, som en vesentlig del før utløpsdatoen som er angitt på pakningen.
- Oppbevar analysereagensen slik som anvist.
- Ikke bruk dekkede strimler hvis det er gått hull på posen.
- ProClin 300 brukes som konserveringsmiddel. Utsiktet kontakt med eller inntak av buffere eller reagenser som inneholder ProClin kan forårsake irritasjon i huden, øynene eller munnen. Bruk god laboratoriepraksis for å redusere faren for å bli utsatt. Hvis symptomer opptrer, bør lege tilkalles.

- Stoppløsningen i dette analyseproduktet inneholder 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Unngå kontakt med hud, øyne og klær. Hvis det eventuelt skulle skje, skylles det område som er berørt, med vann.
- Hver blodgiverenhet som er brukt til fremstilling av standarder og kontroll-sera i dette produktet ble testet med FDA-godkjent metode for påvisning av antistoff mot humant immunsvikt-virus (HIV1 OG HIV) og mot hepatitt C-virus, samt for hepatitt B-overflateantigen. Siden ingen testmetode helt kan garantere fullstendig fravær av smittefarlige stoffer, skal disse reagensene håndteres med grad 2 for biologisk sikkerhetshåndtering, slik som anbefalt for potensielt smittefarlig humant serum eller blodprøver i "Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual" "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2007.
- For å oppnå nøyaktige resultater er riktig innsamling og oppbevaring av prøvemateriale svært viktig (se *INNSAMLING OG OPPBEVARING AV PRØVEMATERIALE*).
- Unngå mikrobiell- eller kryss-forurensning av prøvemateriale og reagenser.
- Ikke bruk en mikrotiterbrønn for mer enn en test.
- Desinfiser alle prøver, reagenser, og utstyr ved bløtlegging i minst 30 minutter i en 1:10 løsning av husholdningsblekemiddel (natrium hypokloritt) eller autoklaver ved 121°C i 30 minutter med 15 psi.
- Hvis man bruker andre inkubasjonstider og -temperaturer enn de som er angitt i prosedyreavsnittet, kan det gi feilaktige resultater.
- **TMB-substratet må beskyttes mot lys under oppbevaring og under inkubasjon.** Unngå kontakt med øyne, hud og klær. Hvis det allikevel skjer, skylles det berørte området umiddelbart med vann.
- Ikke la mikrotiterbrønnene tørke når analysen har begynt.
- Ikke skrap eller berør undersiden av brønnene når du fjerner væske fra mikrotiterbrønnene.
- Prøver som er inaktivert ved oppvarming, kan gi feilaktige resultater.
- Hyperlipemiske eller forurensede prøver kan gi feilaktige resultater.
- For å unngå at det dannes aerosol under vaskeprosedyren, skal man bruke utstyr til å suge væsken opp i en flaske som inneholder husholdningsblekemiddel.
- **For å vaske platen, bør man bruke en vaskeflaske eller automatisk fyllingsutstyr (ANALYSEPROSEDYRE, trinn 8). Multikanalpipette skal ikke brukes til å vaske mikrotiterplaten, hvis man ønsker å oppnå best mulige resultater.**
- Testing skal utføres i et område med god ventilasjon.
- Kast beholdere og ubrukt innhold i henhold til føderale, statlige og lokale myndighetskrav.
- Bruk egnede verneklær, hansker og beskyttelse for øyne og ansikt når du håndterer innholdet i dette settet.
- Vask hendene grundig etter håndtering.
- Hvis du ønsker mer informasjon om faresymboler, sikkerhet, håndtering og kassering av komponentene i dette settet, se sikkerhetsdatabladet på [quidel.com](http://quidel.com).

## OPPBEVARING

Et uåpnet sett skal oppbevares ved 2°C til 8°C. La reagenser og materiell komme opp i 15°C til 30°C før bruk. Legg alle ubrukte mikrotiterstrimler i oppbevaringsposen, som forsegles igjen, og oppbevares ved 2°C til 8°C.

## INNSAMLING OG OPPBEVARING AV PRØVER

**Håndter og kast alle prøver i overensstemmelse med generelle forholdsregler.**

Riktig innsamling, forberedelse og oppbevaring av prøver er viktig, fordi SC5b-9 kan dannes i prøver som ikke er behandlet riktig, ved artefakt komplementaktivering.

Det er typisk at verdier for normale serum-prøver er høyere enn de man får med normale serum-prøver med EDTA eller citrat. SC5b-9-nivåene i EDTA- eller citrat-plasma kan derfor mer nøyaktig representere *in vivo* – konsentrasjoner.

Serum- eller EDTA- eller citrat-plasmaprøver skal derfor tas aseptisk ved bruk av standardmetoder. Prøvene skal testes umiddelbart eller oppbevares ved 4 °C eller på is i maksimum 4 timer før de analyseres.

Hvis prøvene ikke kan bli testet innen fire timer, slik som beskrevet ovenfor, skal prøvene fryses ved  $-70^{\circ}\text{C}$ , eller under.

En **Prøvestabiliserende løsning** (Del nr. A9576) kan også brukes for å forberede prøver av humant serum eller plasma for oppbevaring. Riktig bruk av dette produktet, som bare kan fås fra Quidel, innebærer at prøven blandes 1:1 med løsningen, før den fryses ned. Teknisk tilleggsinformasjon om løsningen, kan fås på forespørsel.

Tin frosne prøver raskt ved  $37^{\circ}\text{C}$  til de er ferdig tint. Legg tinte prøver umiddelbart på is (ikke mer enn fire timer) for å hindre komplementaktivering før fortytning. Ikke la prøvene ligge ved  $37^{\circ}\text{C}$ , da komplementaktivering kan forekomme. Ikke tin prøvene ved romtemperatur eller ved  $4^{\circ}\text{C}$ , da dette kan føre til komplementaktivering. Prøvene skal testes så snart som mulig etter tining. Gjentatt nedfrysing og opptining anbefales ikke. Hvis prøvene skal fryses igjen for senere analyse, foreslår Quidel å dele opp prøvene i flere deler, for å unngå gjentatt frysing og opptining.

## FORBEREDELSE AV REAGENSER

**La alle reagensene komme opp i  $15^{\circ}\text{C}$  til  $30^{\circ}\text{C}$  før bruk.**

Etter å ha tatt ut reagenser og utstyr som skal brukes, legges det ubrukte materiale tilbake for oppbevaring i riktig temperatur (se *OPPBEVARING*).

Det er ikke nødvendig å fortynne standarder og kontroller før bruk.

## Vaskeløsning

Bland den 20X konsentrerte vaskeløsningen ved å snu flasken opp ned flere ganger. Hvis den 20X konsentrerte vaskeløsningen er blitt oppbevart ved  $2^{\circ}\text{C}$  til  $8^{\circ}\text{C}$ , kan det ha dannet seg krystaller. For å løse opp krystallene, varmes flasken opp i et vannbad på  $37^{\circ}\text{C}$  til  $50^{\circ}\text{C}$  til alle krystallene er oppløst, og blandes grundig etter det. Vaskeløsningen forberedes ved å fortynne hele innholdet i en av flaskene med 20X konsentrert vaskeløsning med opp til en liter destillert eller ikke-ionisert vann. Bland grundig. Vaskeløsningen er holdbar i 30 dager, hvis den oppbevares i en ren beholder ved  $2^{\circ}\text{C}$  til  $8^{\circ}\text{C}$ . Hvis reagensen blir misfarget eller grumset, skal den kastes.

## Valg av mikrotiterstrimler

Bestem antall brønner som kreves for analysen. Vi anbefaler at tomme brønner, kontroller og standarder blir testet i duplikat. Fjern strimmel-holderen fra platen. Ta ut de strimlene som ikke skal brukes, og legg dem i oppbevaringsposen, som forsegles igjen, og legges tilbake for oppbevaring ved  $2^{\circ}\text{C}$  til  $8^{\circ}\text{C}$ . Fest de strimlene som skal brukes, i mikrotiter-rammen.

## Fortynning av prøver

**ADVARSEL: Håndter alle prøver som potensielt smittefarlige. Følg generelle forholdsregler. Ikke bruk prøver som er inaktivert ved oppvarming, er forurensede eller er feilaktig oppbevart.**

**MERK: Se *INNSAMLING OG OPPBEVARING AV PRØVER* for viktige opplysninger om hvordan man tiner frosne prøver. Riktig håndtering av prøver er vesentlig for å oppnå eksakte resultater.**

Quidel foreslår at normale plasmaprøver fortynnes 1:10 i den prøvefortynneren som er levert; at serumprøver bør fortynnes 1:40. Det kan være nødvendig med en 1:200 fortytning, eller mer, for en prøve med høye nivåer av SC5b-9. Prøver **må** fortynnes slik at verdiene som man leser av ved  $A_{450}$  er over LLOQ og ikke overstiger  $A_{450}$ -verdien i SC5b-9-settet Plus Standard E. Prøver med  $A_{450}$ -verdier som ligger utenfor dette område, skal analyseres om igjen med en ny fortytning.

Bestem antall (N) prøver som skal testes. Merk testrørene #1 til og med #N, og noter hvilke prøver som tilsvarer hvert enkelt rør. Forbered en passende fortykning (se foregående avsnitt) av hver enkelt prøve ved å bruke prøvefortynneren. Bland grundig, og unngå at det blir skum eller bobler. Fortynnede prøver skal ikke oppbevares eller brukes om igjen.

## Tilsetting av fortynnede prøver i mikrotiterbrønnene

En av to metoder kan brukes for å tilsette fortynnede prøver, standarder, kontroller og buffer, i brønnene of (se trinn 6 *ANALYSE-PROSEDYRE*). For små analyser, der bare noen få prøver skal testes, kan de fortynnede prøvene og andre reagenser, tilsettes direkte i de respektive brønnene med en mikropipette (100 µl/brønn). For små eller store analyser, og spesielt for store analyser, anbefaler vi at det brukes en multikanalpipette for å tilsette prøver, slik som beskrevet nedenfor. **(Denne prosedyren kan også brukes for å tilsette konjugat, substrat og stoppløsning på en enkel måte.)**

For å fordele standarder, kontroller og fortynnede prøver i mikrotiterbrønnene så raskt som mulig, kan man bruke en "kopi-plate"-prosedyre. I stedet for å tilsette 100 µl av hver standard, kontroll eller fortynnede prøve i hver enkelt av brønnene som er dekket med antistoff, kan man tilsette 120 µl til 130 µl av hver løsning i hver enkelt brønn på en tom plate (ikke levert) som stemmer overens med det endelige EIA-mønsteret man ønsker. Etter at alle løsningene som skal testes, er fordelt i mikrotiterbrønnene på den tomme platen, overfører man raskt 100 µl fra hver null- brønn til de brønnene som er dekket med antistoff ved å bruke en multikanalpipette. For å hindre kryss-forurensning, må pipettespissene byttes hver gang sammensetningen av prøvene som skal testes, er en annen.

## ANALYSEPROSEDYRE

**Les hele pakningsvedlegget før du begynner med analysen.**

Se *FORBEREDELSE AV REAGENSER* og *ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER*.

1. Noter plasseringene på mikrotiterbrønnene som tilsvarer null-brønn(er), alle prøver som skal testes, standarder og kontroller, samt varepartinummet som er angitt på pakningen. Merk av et hjørne på mikrotiterplaten til orientering.
2. Forbered mikrotiterstrimlene på følgende måte:
  - a. Hydratiser mikrotiterbrønnene ved å tilsette ca. 300 µl vaskeløsning i hver brønn ved bruk av en vaskeflaske eller automatisk fylleutstyr.
  - b. Inkuber ved 15°C til 30°C i to minutter.
  - c. Fjern væsken fra alle brønnene.
  - d. Snu platen opp ned og slå den fast og forsiktig mot tørkepapir to ganger for å fjerne eventuell gjenværende væske.
3. Velg en eller flere brønner, som skal tjene som null-brønn. Tilsett 100 µl prøvefortynner i brønn(ene), som skal brukes for null-avlesning for plateavleseren.
4. Tilsett 100 µl av hver SC5b-9-standard (A, B, C, D, E) i brønnene i duplikat. **Merk: Standardene er allerede fortynnet og er ferdige til bruk.**
5. Tilsett 100 µl av både den høye SC5b-9-kontrollen og den lave SC5b-9-kontrollen i brønnene i duplikat. **Merk: Kontrollene er allerede fortynnet og er ferdige til bruk.**
6. Tilsett 100 µl av hver fortynnet prøve i de brønnene de er beregnet for. (Se *FORBEREDELSE AV REAGENSER, prøvefortynner*).
7. Inkuber ved 15°C til 30°C i 60 ± 1 minutter.
8. Vask mikrotiterbrønnene på følgende måte:
  - a. Etter inkubasjon i trinn 7 (eller i trinn 10, nedenfor) fjernes væsken fra alle brønnene.
  - b. Tilsett ca. 300 µl vaskeløsning i hver brønn ved å bruke en vaskeflaske eller automatisk fylleutstyr.
  - c. Inkuber brønnene i 1 minutt ved 15°C til 30°C.
  - d. Fjern væsken fra alle brønnene.
  - e. Tilsett ca. 300 µl vaskeløsning i hver brønn.
  - f. Fjern væsken fra alle brønnene.
  - g. **Gjenta trinn e-f tre ganger til.**

- h. Etter den femte vaskeomgangen snus platen opp ned, og slås forsiktig og fast mot tørkepapir to ganger for å fjerne eventuell gjenværende væske.
9. Ved å bruke en multikanalpipette eller en pipette for gjentatt bruk, fordeles 50 µl av SC5b-9 Plus-konjugat i hver prøvebrønn som er vasket, også null-brønn(ene).
  10. Inkuber mikrotiterstrimlene ved 15°C til 30°C i 30 ± 1 minutter.
  11. Vask mikrotiterbrønnene etter 30-minutters (trinn 10), slik som beskrevet under *ANALYSEPROSEDYRE*, trinn 8.
  12. Umiddelbart etter vaskeprosedyren fordeles 100 µl substratløsning i hver brønn, også null-brønn(ene).
  13. Inkuber mikrotiterstrimlene ved 15°C til 30°C i 15 (± 1) minutter.
  14. Tilsett 100 µl stoppløsning i hver brønn for å stoppe den enzymatiske reaksjonen. Stoppløsningen skal tilsettes i brønnene i samme rekkefølge og med samme fordelingshastighet som substratløsningen. Slå forsiktig på platen slik at fargeutviklingen fordeler seg jevnt. **Merk: Optimale resultater kan oppnås ved bruk av plateavleserens automatiske blandefunksjon, (hvis tilgjengelig), like før platen avleses.**
  15. Bestem absorbansen med avlesning ved 450 nm ( $A_{450}$ -verdi) for hver testbrønn innen 30 minutter etter å ha tilsatt stoppløsningen (trinn 14), og utfør den nødvendige null-korreksjonen.
  16. Bestem konsentrasjonen for prøver og kontroller ut fra standardkurven.
  17. Kast fortynnede prøver, kontroller og mikrotiterstrimler som er igjen (se *ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER*).

## KVALITETSKONTROLL

God laboratoriepraksis anbefaler at man bruker kontroller for å forvise seg om at analysen går riktig for seg. Hvert SC5b-9 Plus-sett inneholder høye og lave kontroller som kan brukes til dette formål. Kontrollenes grenseverdier foreligger. Det er meningen at kontrollverdiene skal verifisere validiteten av kurven og prøveresultatene. Hvert laboratorium bør sette opp egne parameter for akseptable analysegrenser. Hvis kontrollverdiene IKKE er innenfor ditt eget laboratoriums godkjente grenser, vil analyseresultatene betraktes som tvilsomme, og prøvene bør gjentas. I tillegg krever pakningsvedlegget at standardkurven som man får med settets standard, oppfyller strenge valideringskrav. Hvis analysen ikke oppfyller disse kravene, må analysen gjentas, eller kontakt Quidel tekniske serviceavdeling.

Analysesertifikatet for dette settet er spesifikt for dette varenummeret, og skal brukes for å verifisere at de resultatene som er oppnådd i ditt laboratorium tilsvarer de som er oppnådd ved Quidel Corporation. Verdiene for optisk densitet, som er levert, er kun ment som retningslinjer. Resultatene som er oppnådd i ditt laboratorium, kan avvike.

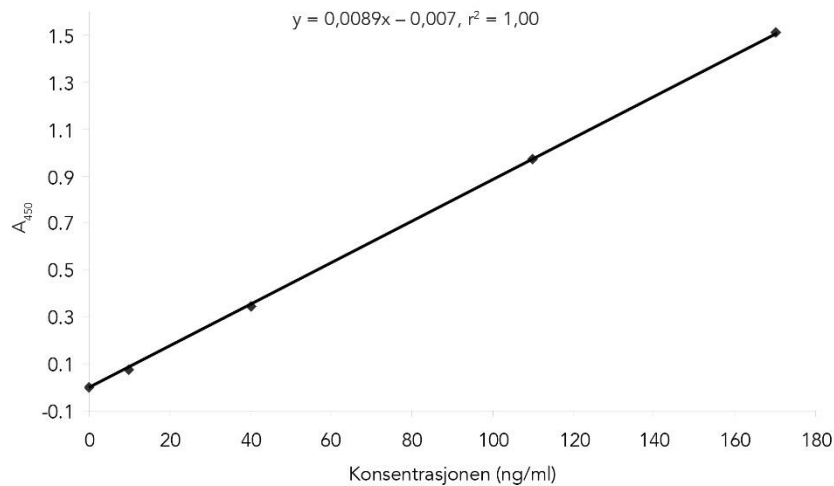
## FORTOLKNING AV RESULTATER

### Beregning av resultater

**Bruk av standardkurven:** Standardkurven for SC5b-9 Plus EIA har man fått ved å bruke  $A_{450}$  nullverdiene som er fratrukket for hver standard (på y-aksen) og den fastsatte konsentrasjonen for hver standard (på x-aksen). Ved lineær regresjon må standardkurven oppfylle valideringskriteriene (se nedenfor). De fleste datamaskiner og kalkulatorer kan utføre disse beregningene.

Alternativt kan dataene fremstilles grafisk manuelt, og verdiene (ng/ml) for testprøvene leses direkte fra den linjen i standardkurven som passer best. Et eksempel på en typisk standardkurve er vist i figur 1.

**Figur 1**  
**Representativ standardkurve**



Prøve	A <sub>450</sub>	ng/ml
Standard A	0	0
Standard B	0,079	10
Standard C	0,347	40
Standard D	0,975	110
Standard E	1,512	170

### Beregning av virkelig SC5b-9-konsentrasjon i prøver

Den tildelte konsentrasjonen på analysesertifikatet er absolutte enheter av SC5b-9-komplekset. Konsentrasjonen av SC5b-9 i en prøve bestemmes ved å multiplisere den bestemte konsentrasjonen med den angjeldende forfynningsfaktoren for prøven. For eksempel, hvis en EDTA-plasmaprøve forfynnes 1:10 for analysen og den lineære regresjons-kurven viser en konsentrasjon på 20 ng SC5b-9/ml, vil konsentrasjonen av SC5b-9 i prøven være 200 ng SC5b-9/ml (eller 20 x 10).

For nøyaktig å kunne bestemme en SC5b-9-konsentrasjon i prøven, som viser A<sub>450</sub>-verdier som er større enn den for SC5b-9-standard E (eller som viser A<sub>450</sub>-verdier som er mindre enn LLOQ), må prøvene analyseres om igjen med en annen forfynning, slik at de nye A<sub>450</sub>-verdiene ligger innenfor disse grensene. SC5b-9-standarder og -kontroller må også testes når en analyse utføres om igjen.

### Validering

Bestem helningen, krysningpunktet og korrelasjonskoeffisient for den avledede linjen som passer best for SC5b-9 A, B, C, D, og E standarder. Verdiene må ligge innenfor de spesifiserte grensene for at analysen skal kunne godkjennes:

---

korrelasjonskoeffisient (r): > 0,95  
 stigning (m): 0,0039 til 0,0123  
 y-krysningpunkt (b): (-) 0,189 til (+) 0,201

---

Se analysesertifikatet for akseptabelt SC5b-9-konsentrasjonsområde for høy og lav kontroll.



## BEGRENSNINGER

MicroVue SC5b-9 Plus -enzymimmunanalysen er blitt brukt til å teste prøver, som er tatt som serum eller plasma i EDTA eller citrat. Andre antikoagulantia er ikke testet.

## PRØVEVERDIER

EDTA-plasma og -serum fra førti (40) vanlige donorer ble testet i SC5b-9 Plus EIA-settet. Resultatene er oppgitt nedenfor:

	n	Gjennomsnitt (ng/ml)	Område: ± 2 SD (ng/ml)
EDTA-plasma	40	147	75 til 219
Serum	40	356	187 til 525

**OBS:** Gjennomsnittet og standardavvik (SD)-atferden av SC5b-9 kompleks-konsentrasjoner fastsatt for plasma- og serumprøver kan variere mellom laboratorier; vi anbefaler derfor at hvert laboratorium fastsetter dets egne normalområder. Verdiene oppgitt ovenfor skal kun betraktes som referanse.

## TESTENS YTEEVNE

### Begrensninger

**LOD:** Grensen for påvisning (LOD) i SC5b-9-analysen er 3.7 ng/ml, bestemt med øvre 3SD-grense i en standard nullstudie.

**LLOQ:** Den laveste grensen for kvantifisering (LLOQ) i SC5b-9-analysen er 8.8 ng/ml, den laveste konsentrasjonen i standardkurven, som oppfyller NCCLS' kriterier for nøyaktighet og presisjon.

### Interfererende substanser

Følgende substanser ble testet i SC5b-9 Plus-analysen og funnet ikke å interferere med analysen:

Substans	Konsentrasjon
Bilirubin	40 mg/dl
Hemoglobin	500 mg/dl
Triclycerider	3000 mg/dl
Li + Heparin	14 U/ml
Na + Heparin	14 U/ml
C9 Protein	180 mg/l
Albumin	6000 mg/dl
Glukose	1200 mg/dl
Kolesterol	500 mg/dl

## Presisjon

Presisjon i samme analyse og mellom analyser ble bestemt ved å analysere 20 nøyaktige kopier av 2 plasmaprøver og 2 serumprøver i 10 forskjellige analyseomganger.

Prøve	SC5b-9 (ng/ml)	I samme analyse <sup>1</sup> C.V. (%)	Mellom analyser <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 nøyaktige kopier    <sup>2</sup>n = 10 omganger

## Linearitet

Linearitet ble utført ved å blande en høy plasmaprøve med en lav plasmaprøve i forskjellige forhold for å få en analytt med middels nivå. Gjennomsnittlig gjenopprettelse var 94 % med absolutte grenser på 86% til 104%.

## ASSISTANSE

For service utenfor USA, vennligst ta kontakt med din lokale forhandler. Ytterligere informasjon om Quidel, vare produkter og vare fordelere kan bli funnet på vår website på [quidel.com](http://quidel.com).

## REFERANSER

1. Müller-Eberhard, H.J., The Membrane Attack Complex, Springer Seminars in Immunopathology, Vol. 7, p.93, 1984.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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 er et varemerke for Quidel Corporation. Varemerke(r) i dette dokumentet er eiendommen til dets/deres respektive eier og dets/deres bruk i dette dokumentet antyder ikke sponing eller påtegning av produkter eller tjenester.

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

**PIA029002NO00 (09/21)**

## ORDLISTE

---

**REF**

Katalognummer



CE-merking for samsvar

---

**EC REP**

Autorisert representant  
i EU

**LOT**

Partikode

---



Bruk innen



Produsent

---



Temperaturbegrensning



Bruksområde

---



Se e-merking instruksjonene før bruk



Biologisk risiko

---

**IVD**

Til *in vitro* diagnostisk bruk



Inneholder tilstrekkelig i henhold til  
96 bestemmelser

---

**CONT**

Innhold/Inneholder

**CONTROL**

Kontroll

---