

En enzymimmunoanalys för kvantitetering av SC5b-9 komplex i humant serum eller plasma

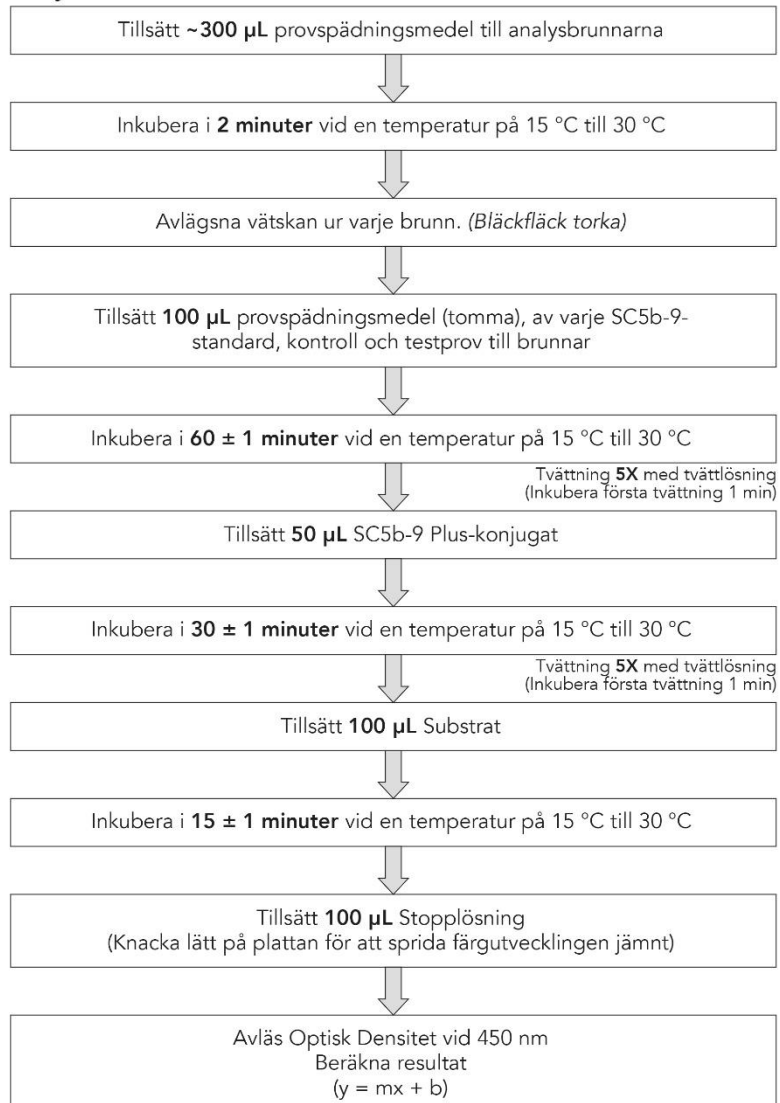
Endast för *in vitro*-diagnostik. Endast för export.
Ej för försäljning eller användning i USA eller Kanada.

SAMMANDRAG

Reagent och Prov Förberedelse

- Späd tvättlösningkoncentrat 1:20 med avjoniserat vatten.
- Späd Serumprover 1:40 med det medföljande provspädningsmedel (e.g. 10 μ L + 390 μ L).
- Späd Plasmaprover 1:10 med det medföljande provspädningsmedel (e.g. 50 μ L + 450 μ L).

Analysförfarande





AVSEDD ANVÄNDNING

MicroVues SC5b-9-enzymimmunoanalys Plus mäter mängden SC5b-9-komplex i humana plasma- eller serumprover..

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Terminalkomplementkomplexet (TCC, SC5b-9) genereras genom ansamling av C5 till och med C9 som en följd av aktivering av komplementsystemet via antingen den klassiska, lectin, eller den alternativa banan.¹ Membranattackkomplexet (MAC), en form av TCC, är ett stabilt komplex som förmedlar den irreversibla skada på mållscellsmembranet som sammanhänger med komplementaktivering.¹⁻⁴ Komplex som bildas i frånvaro av ett målmembran binder till naturligt förekommande reglerande serumprotein –, dvs S-proteinet,⁵⁻⁷ i C5b-7-samlingssteget och skapar. en löslig, icke-lytisk TCC.^{1,5} I detta dokument kallar vi alla former av stabilt terminalkomplementkomplex för TCC och SC5b-9, och vi är medvetna om att även andra komplementreglerande protein, såsom Clusterin, också skapar dessa stabila komplement och kan spåras i SC5b-9- och Plus-analysen.

MicroVue enzymimmunoanalys SC5b-9 Plus mäter koncentrationen av TCC vilket ger en indikation på status för den terminala komplementbanan i provet. Den använder en monoklonal antikropp till TCCs C9-ring för att fånga komplexet. Det TCC som fångats in detekteras sedan med HRP-konjugerade antikroppar som binder till antigener i SC5b-9-komplexet. Detta test, som utgör ett snabbt, ytterst specifikt och kvantitativt förfarande för mätning av TCC-halter, har utformats för undersökningar som studerar roll eller status för aktivering av terminal komplementbana i många olika forskningssammanhang, liksom för övervakning av genereringen av SC5b-9-komplex *in vivo* eller *in vitro*.

TCC-halter indikerar halten av komplementaktivering i provet. Höga halter av komplementaktivering har påvisats i en mängd olika sjukdomstillstånd inklusive systemisk lupus erytematos (SLE) och andra autoimmuna sjukdomar, reumatoid artrit, akut respiratoriskt tillstånd och under inflammatoriska sjukdomar som hjärtinfarkt och stroke.

PROCEDURENS PRINCIP

MicroVues enzymimmunoanalys för SC5b-9 Plus, för kvantitering av SC5b-9 i humant serum eller plasma, eller i experimentprover, utgör ett trestegsförfarande som använder sig av (1) en mikroanalysplatta belagd med en monoklonal musantikropp som binder specifikt till SC5b-9 C9-ringen, (2) en HRP-konjugerad getantihuman-SC5b-9, samt (3) ett kromogent substrat.

I det första steget tillsätts standarder, kontroller och testprover till mikroanalysbrunnar som förbelagts med en anti-SC5b-specifik monoklonal antikropp. SC5b-9 i standarderna, kontrollerna eller proverna binder till det immobiliserade anti-SC5b-9:et. Efter inkuberingen avlägsnar en tvättcykel obundet material. Konstituent TCC-protein, inklusive C9, binder inte till denna antikropp och försvinner under tvättcykeln.

Under det andra skedet tillsätter man pepparrotsperoxidaskonjugerade (HRP) antikroppar för antigener på SC5b-9 till varje testbrunn. De enzymkonjugerade antikropparna binder till SC5b-9 som fångades in av det monoklonala anti-SC5b-9 som bundits till ytan på mikroanalysbrunnarna. Efter inkuberingen avlägsnar en tvättcykel obundet konjugat.

Under det tredje steget tillsätts ett kromatogent enzymsubstrat till varje mikroanalysbrunn. Det bundna HRP-konjugatet reagerar med substratet så att en blå färg bildas. Efter inkubation tillsätts en reagens för att stoppa färgutvecklingen, vilket ger en gul färg. Standardens, kontrollens och testprovets absorbanser (A_{450} -värden) mäts spektrofotometriskt. Reaktionsblandningens färgintensitet är proportionell mot koncentrationen SC5b-9 (TCC) i testproverna, standarderna och kontrollerna.

MEDFÖLJANDE REAGENSER OCH MATERIAL

96 analyser för SC5b-9-komplex

EIA-kit MicroVue SC5b-9 Plus innehåller följande:

| | | | |
|----------|--|--------------------------|----------------------|
| A | SC5b-9- Plus standarder | Art. A9958-62 | 5 x 1,5 mL |
| B | Innehåller humant serum som innehåller kända mängder SC5b-9 i PBS, proteinstabilisatorer och | | |
| C | konserveringsmedel | | |
| D | | | |
| E | | | |
| H | Höga/Låga kontroller | Art. A9581, A9582 | 2 X 1,5 mL |
| L | Innehåller human plasma med en hög/låg nivå SC5b-9-komplex och konserveringsmedel | | |
| 1 | Remsor med beläggning | Art. A3840 | 12 av vardera |
| | 8-brunnsremсор belagda med antiklonala musantikroppar som är specifika för humant SCb-9 i återförslutbar foliepåse | | |
| 2 | Stopplösning | Art. 4978 | 12 mL |
| | Innehåller 2N H ₂ SO ₄ | | |
| 3 | 20X-tvättlösningkoncentrat | Art. A9957 | 2 x 50 mL |
| | Innehåller fosfatbuffrad saltlösning, 0,05-procentig Tween-20® och Proclin® 300 | | |
| 4 | Provspädningsmedel | Art. A3670 | 50 mL |
| | Innehåller PBS, 0,05 % Tween-20 stabiliserare, 0,035 % ProClin 300 | | |
| 5 | TMB substrat | Art. A9946 | 12 mL |
| | Peroxidsubstrat som är klart för användning och 3,3',5,5'-TMB (tetrametylbensyden) | | |
| 6 | SC5b-9 Plus-konjugat | Art. A9577 | 7 mL |
| | Innehåller pepparrotsperoxidaskonjugerade (get)antikroppar för SC5b-9-antigener | | |

Tween-20® är ett varumärke som tillhör ICI Americas Inc.

ProClin® är ett varumärke som tillhör Rohm and Haas Company.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER

- Timer (60 minuters omfång)
- Räknare eller annan beräkningsmöjlighet för validering av analysen
- Rena, obegagnade mikroanalysplattor och/eller provrör och rack
- Behållare för tvättbuffertlösning
- Tvättflaska eller annat immunoanalystavvättningssystem
- Ställbar multikanalpipett (8 eller 12 kanaler), eller repeterande mikropipetter (tillval)
- Rena pipetter, 1 mL, 5 mL och 10 mL
- Mikropipetter och pipettspetsar
- Plattläsare med kapacitet för optiska densiteter på mellan 0,0 och 2,0
- Avjoniserat eller destillerat vatten
- Även om det inte krävs, rekommenderas en plattläsare med automatisk blandningskapacitet.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSANVISNINGAR

- För diagnostisk *in vitro*-användning.
- Behandla alla prover som biologiskt riskmaterial. Hantera satsens innehåll och patientprover med försiktighet.
- Medföljande reagenser används som en enhet fram till det utgångsdatum som anges på förpackningen.
- Förvara analysreagenser enligt anvisningen.
- Använd inte remсор med beläggning om det finns hål på förpackningen.

- ProClin™ 300 används som konserveringsmedel. Tillfällig kontakt med eller förtäring av buffertlösningar eller reagenser med ProClin kan orsaka irritation på hud, ögon och mun. Tillämpa god laboratoriepraxis för att reducera exponeringen. Sök läkarhjälp i händelse av symptom.
- Stopplösningen för denna produktanalys är 2N H₂SO₄. Undvik kontakt med ögon, hud och kläder. Vid kontakt med lösningen måste det utsatta området omedelbart sköljas med vatten.
- Varje givarenhet som testats vid beredningen av denna produkts standarder och kontroller har testats med en av FDA godkänd metod med avseende på förekomsten av antikroppar för humant immunbristvirus (HIV1 och HIV2) och hepatit C-virus, liksom även för hepatit B-ytantigen. Eftersom ingen testmetod helt kan säkerställa att infektiösa agenser inte förekommer, så ska dessa reagenser hanteras på biosäkerhetsnivå 2, enligt rekommendationerna för potentiellt infektiösa humana serum- eller blodprov i Centers for Disease Controls/National Institutes of Healths handbok "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" 2007.
- Korrekt provtagning och förvaring av testprover är av avgörande betydelse för korrekta resultat (se *PROVTAGNING OCH PROVFÖRVARING*).
- Undvik mikrobiell kontaminering eller korskontaminering av prover eller reagenser.
- Använd inte en mikroanalysbrunn för mer än ett test.
- Dekontaminera alla prover, reagenser och material genom att blötlägga i minst 30 minuter i en lösning i förhållandet 1:10 med kommersiellt blekmedel (natriumhypoklorit), eller autoklavera vid en temperatur på 121 °C i 30 minuter vid 15 psi.
- Tillämpning av andra inkubationstider och temperaturer än dem som anges i avsnittet Förfarande kan leda till felaktiga resultat.
- **TMB-substratet måste skyddas mot ljus vid förvaring och inkubation.** Undvik kontakt med ögon hud och kläder. Vid kontakt med lösningen måste det utsatta området omedelbart sköljas med vatten.
- Låt inte mikroanalysbrunnarna torka när analysen har påbörjats.
- Undvik att skrapa eller beröra brunnarnas botten vid uttagning av vätskor ur mikroanalysbrunnarna.
- Värmeinaktiverade prover kan ge upphov till felaktiga resultat.
- Hyperlipemiska eller kontaminerade prover kan leda till felaktiga resultat.
- Undvik aerosolbildning vid tvätt genom att använda en apparat som aspirerar tvättvätskan till en flaska innehållande ett kommersiellt blekmedel.
- **Ett tvättflaska eller automatisk fyllningsanordning ska användas för att tvätta plattan (ANALYSFÖRFARANDE, steg 8). För bästa möjliga resultat ska en flerkanalspipett inte användas för tvättningen av mikroanalysplattan.**
- Testning ska utföras i utrymmen med tillräcklig ventilation.
- Kassera behållare och oanvänt innehåll i enligt gällande nationella och lokala reglerings föreskrifter.
- Använd lämpliga skyddskläder, -handskar och -glasögon/ansiktsskydd vid hantering av kitets innehåll.
- Tvätta händerna grundligt efter hantering.
- För ytterligare information om farosymboler, säkerhet, hantering och bortskaffande av delarna som ingår i denna sats, hänvisas till säkerhetsdatabladet (SDS) på quidel.com.

FÖRVARING

Förvara det öppnade kitet vid en temperatur på 2 °C till 8 °C. Se till att alla reagenser och material fått en temperatur på 15 °C till 30°C innan de används. Lägg tillbaka de remsor som inte använts i förvaringspåsen, återförslut den och förvara den vid en temperatur på 2 °C till 8 °C.

PROVTAGNING OCH FÖRVARING

Hantera och kassera alla prover med försiktighet.

Korrekt provtagning, behandling och förvaring av prover är av största vikt, eftersom SC5b-9 kan genereras i felhanterade prover genom artefaktuell komplementaktivering.

Normalvärdena för serumprover är normalt något högre än dem som erhålls med normala EDTA-plasmaprover eller citrerade plasmaprover. SC5b-9-halterna i EDTA-plasma eller citrerad plasma kan därför bättre representera *in vivo*-koncentrationerna.

Serum- eller EDTA-plasmaprover eller citrerade plasmaprover ska tas med ett aseptiskt förfarande enligt normal praxis. Proven ska antingen testas direkt eller förvaras vid en temperatur på 4 °C, eller på is, i högst fyra timmar, tills de analyseras.

Om provet inte kan testas inom fyra timmar, enligt riktlinjerna ovan, ska provet frysas vid en temperatur på –70 °C eller lägre.

En **Provstabiliseringslösning** (Prod. Nr. A9576) kan även användas för att bereda humana serum- och plasmaprover för förvaring. Korrekt användning av denna produkt – som endast kan erhållas från Quidel – kräver att provet späds i förhållandet 1:1 med lösningen före frysning. Ytterligare teknisk information om lösningen kan erhållas på begäran.

Tina snabbt frysta prover vid 37 °C tills de precis är upptinade. Lägg omedelbart upptinade prover på is (i högst fyra timmar) för att undvika komplementaktivering före utspädningen. Låt inte proverna ligga i en temperatur på 37 °C, eftersom komplementaktivering då kan inträffa. Tina inte prover vid rumstemperatur eller 4 °C eftersom detta kan leda till komplementaktivering. Proverna ska testas så snart som möjligt efter upptining. Upprepad infrysning och upptining rekommenderas inte. Om proverna måste frysas igen, för vidare analys, föreslår Quidel att proverna delas upp i flera delar, för att undvika flera frysnings- och upptiningscykler.

FÖRBEREDANDE AV REAGENS

Se till att alla reagenser och material fått en temperatur på 15 °C till 30 °C innan de används.

När de reagenser och det material som behövs tagits till vara ska oanvända reagenser och oanvänt material återföras till sina respektive förvaringstemperaturer (se *FÖRVARING*).

Standarder och kontroller kräver inte utspädning eller förberedelser före användning.

Tvättlösning

Blanda 20 X-tvättlösningsskoncentratet genom att vända flaskan uppochner flera gånger. Om 20 X-tvättlösningsskoncentratet har förvarats vid en temperatur på 2 °C till 8 °C kan kristaller ha bildats. För att lösa upp kristallerna värmer man flaskan i ett vattenbad på 37 °C till 50 °C tills alla är upplösta och blandar därefter om omsorgsfullt. Bered tvättlösningen genom att späda ut hela innehållet i en av flaskorna med 20 X-tvättlösningsskoncentrat till en liter med destillerat eller avjoniserat vatten. Blanda omsorgsfullt. Tvättlösningen är stabil i 30 dagar vid förvaring i en ren behållare vid en temperatur på 2 °C till 8 °C. Vid missfärgning eller grumling ska reagensen kasseras.

Välja mikroanalysremсор

Beräkna hur många brunnar som behövs för analysen. Vi rekommenderar att de tomma brunnarna, kontrollerna och standarderna testas i duplikat. Ta bort remsfästet från den monterade plattan. Ta bort de remsor som inte behövs och placera dem i förvaringspåsen, återförslut påsen och återför den till förvaring vid en temperatur på 2 °C till 8 °C. Säkra de remsor som ska användas i analysen i ramen runt analysplattan.

Provspädning

Försiktighet: Behandla alla prover som farliga. Använd de gällande generella försiktighetsanvisningarna. Använd inte värmeinaktiverade, kontaminerade prover eller prover som har förvarats på felaktigt sätt.

Obs! Se Provtagning och förvaring för viktig information om hur frysta prover ska tinas upp. Det är viktigt att proverna hanteras på rätt sätt för att få riktiga resultat.

Quidel rekommenderar att normala plasmaprover späds i förhållandet 1:10 med det medföljande provspädningsmedlet. Serumprover ska spädas i förhållandet 1:40. En spädning på 1:200 eller mer kan

erfordras för prover med höga SC5b-9-nivåer. Proven **måste** spädas så att de A₄₅₀-värden som erhålls överstiger LLOQ och inte överstiger A₄₅₀-värdet för SC5b-9-Plus-kitstandard E. Prover med A₄₅₀-värden utanför detta intervall måste analyseras om med en ny spädningsgrad.

Beräkna hur många (N) prover som ska testas. Märk provrören med nr. 1 till och med provrör nr. N, och registrera vilka prov som motsvarar vilka provrör. Bered en lämplig spädning (se avsnittet ovan) av varje prov med provspädningsmedlet. Blanda omsorgsfullt men undvik skum- och bubbelbildning. Förvara eller återanvänd inte spädda prover.

Tillsätta utspädda prover till mikrotitrerbrunnarna

Endera av två metoder kan användas vid tillsättning av de utspädda proverna, standarderna, kontrollerna och bufferten till brunnarna (se steg 6 i *ANALYSFÖRFARANDE*). För små analyskörningar, då endast ett fåtal prover testas, kan de utspädda proven och de övriga reagenserna tillsättas direkt till respektive brunn med en mikropipett (100 µL/brunn). För små eller stora körningar, men i synnerhet stora körningar, rekommenderar vi användning av en multikanalpipett för tillsättning av proverna, enligt nedan. **(Detta tillvägagångssättet går även att använda för att på ett praktiskt sätt tillsätta konjugat, substrat och stopplösning.)**

För att ladda standarderna, kontrollerna och de utspädda proverna i mikroanalysbrunnarna så snabbt som möjligt kan man använda sig av en "replikplatteteknik". I stället för att tillsätta 100 µL av varje standard, kontroll eller utspätt prov till de antikroppsbelagda brunnarna individuellt kan 120 µL till 130 µL av varje lösning tillsättas till de individuella brunnarna på en tom platta (ingår inte) som motsvarar det önskade slutliga EIA-mönstret. När alla lösningar som ska testas har tillsatts till mikroanalysbrunnarna i den tomma plattan överför man sedan snabbt 100 µL från varje brunn till de antikroppsbelagda brunnarna med en multikanalmikropipett. För att eliminera risken för korskontaminering måste pipettspetsarna bytas varje gång sammansättningen på de prover som ska överföras ändras.

ANALYSPROCEDUR

Läs hela produktbladet innan analysen påbörjas.

Se *REAGENSBEREDNING* och *VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER*.

1. Registrera mikroanalysbrunnpositionerna för den eller de tomma brunnarna, samtliga testprover, standarder och kontroller, samt de indikerade satsnumren från flasketiketterna. Märk ut ett av hörnen på mikroanalysplattan för orientering.
2. Bered mikroanalysbrunnarna så här:
 - a. Rehydrera mikroanalysbrunnarna genom att tillsätta ungefär 300 µL tvättlösning till varje brunn med hjälp av en tvättflaska eller annan automatiserad fyllningsanordning.
 - b. Inkubera vid en temperatur på 15 °C till 30 °C i två minuter.
 - c. Avlägsna vätskan ur varje brunn.
 - d. Vänd plattan uppochner och knacka kraftigt över det absorberande papperet två gånger för att avlägsna eventuell kvarvarande vätska.
3. Välj en eller flera brunnar som ska utgöra blank. Tillsätt 100 µL provspädningsmedel till den eller de brunnar som ska användas för blankning av plattläsaren.
4. Tillsätt 100 µL av varje SC5b-9-standard (A, B, C, D, E) till duplikatbrunnarna. **OBS! Standarderna har redan späts och de är klara för användning.**
5. Tillsätt 100 µL av såväl den höga som den låga SC5b-9-kontrollen till duplikatbrunnar. **OBS! Kontrollerna har redan späts ut och är klara att användas.**
6. Tillsätt 100 µL av varje utspätt prov till dess tillägnade mikroanalysbrunn. (Se *FÖRBEREDANDE AV REAGENS, Provspädning*).
7. Inkubera vid en temperatur på 15 °C till 30 °C i 60 ± 1 minut.
8. Tvätta mikroanalysbrunnarna så här:
 - a. Avlägsna vätskan ur varje brunn efter inkubationen i steg 7 (eller i steg 10 nedan).

- b. Tillsätt ungefär 300 µL tvättlösning till varje brunn med hjälp av en tvättflaska eller en automatiserad fyllningsanordning.
 - c. Inkubera brunnarna i 1 minut vid en temperatur på 15 °C till 30 °C.
 - d. Avlägsna vätskan ur varje brunn.
 - e. Tillsätt ungefär 300 µL tvättlösning till varje brunn.
 - f. Avlägsna vätskan ur varje brunn.
 - g. Upprepa stegen e-f ytterligare tre gånger.**
 - h. Vänd på plattan efter den femte tvättcykeln och knacka kraftigt två gånger över absorberande papper för att avlägsna eventuell kvarvarande vätska.
9. Dispensera med hjälp av en multikanalpipett eller repeterande pipett 50 µL SC5b-9-konjugat i varje tvättad testbrunn, inklusive blankbrunnen/brunnarna.
 10. Inkubera mikroanalysremorna i 30 ± 1 minuter vid en temperatur på 15 °C till 30 °C.
 11. Tvätta mikroanalysbrunnarna efter den 30 minuter långa inkubationen (steg 10), enligt anvisningarna i avsnittet *ANALYSFÖRFARANDE*, steg 8.
 12. Dispensera direkt efter tvättförfarandet 100 µL av substratlösningen i varje brunn, inklusive blankningsbrunnen/brunnarna.
 13. Inkubera mikroanalysremorna i $15 (\pm 1)$ minuter vid en temperatur på 15 °C till 30 °C.
 14. Tillsätt 100 µL stopplösning till varje brunn för att stoppa den enzymatiska reaktionen. Stopplösningen ska tillsättas till brunnarna i samma ordningsföljd och med samma tempo som substratlösningen. Knacka lätt på plattan för att sprida färgutvecklingen jämnt. **OBS! Optimala resultat kan erhållas med användning av plattläsarens automatiska blandningsfunktion (om sådan är tillgänglig) precis innan plattan avläses.**
 15. Läs av absorbansen vid 450 nm (A_{450} -värde) för varje testbrunn inom 30 minuter efter tillsatsen av stopplösningen (steg 14), och genomför nödvändig blankkorrigering.
 16. Avgör koncentrationen i prover och kontroller från standardkurvan.
 17. Kassera återstående utspädda prover och kontroller och de begagnade mikroanalysremorna (se *VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER*).

KVALITETSKONTROLL

God laboratoriepraxis rekommenderar användning av kontroller för att säkerställa att analysen fungerar som den ska. Varje SC5b-9 Plus-kit innehåller höga och låga kontroller som kan användas för detta. Kontrollområdena finns angivna. Kontrollvärdena är avsedda för verifiering av kurvans och provresultatens validitet. Varje enskilt laboratorium bör etablera egna parametrar för acceptabla gränsvärden för analys. Om kontrollvärdena INTE ligger inom laboratoriets acceptansgränser, bör analysens resultat anses tvivelaktiga och proverna bör testas igen. Dessutom måste enligt produktbladet den standardkurva som genereras med kitets standarder uppfylla stränga valideringskrav. Om analysen inte uppfyller dessa krav ska man upprepa analysen eller kontakta Quidels tekniska support.

Analyscertifikatet som medföljer produkten är partispecifikt och ska användas för att intyga att laboratoriets resultat liknar dem som erhålles hos Quidel Corporation. De angivna optiska densitetsvärdena ska endast användas som riktlinjer. Resultatet i ert laboratorium kan avvika.

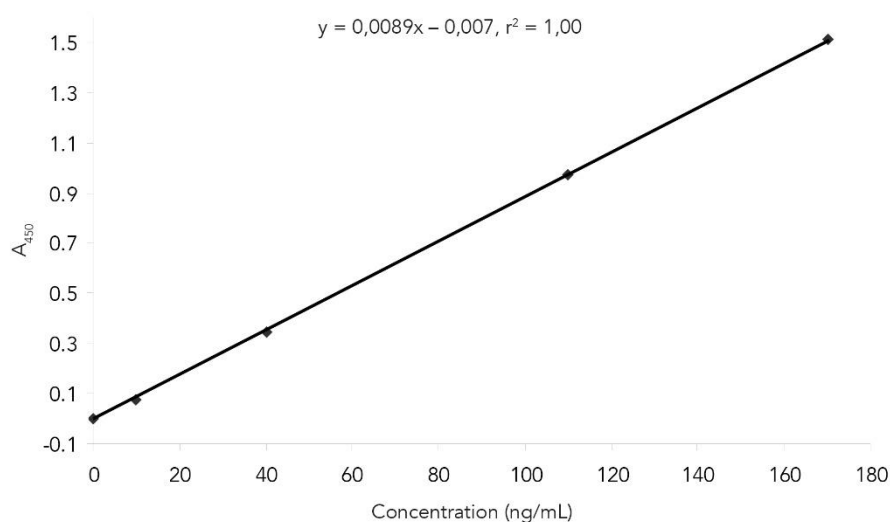
RESULTATTOLKNING

Resultatberäkning

Användning av standardkurvan: Standardkurvan för SC5b-9 Plus EIA genereras med användning av de blanksubtraherade A_{450} -värdena för varje standard (på y-axeln) och den tilldelade koncentrationen för varje standard (på x-axeln). Efter linjär regression måste den genererade standardkurvan uppfylla valideringskraven (se nedan). De flesta datorer och räknare går att använda för dessa beräkningar.

Alternativt kan berörda data läggas in i ett diagram manuellt och värdena (ng/mL) för testproverna läsas av direkt från den standardkurvlinje som passar bäst. Ett exempel på en typisk standardkurva återges i Figur 1.

Figure 1
Representativ standardkurva



| Prov | A ₄₅₀ | 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 |

Beräkning av faktisk SC5b-9-koncentration i prover

Koncentrationen som anges på analyscertifikatet är uttryckt i absoluta enheter av SC5b-9-komplex. SC5b-9-koncentrationen i ett prov fastställs genom att den fastställda koncentrationen multipliceras med den tillämpliga provspädningsfaktorn. Om ett EDTA-plasmaprov exempelvis har späts i förhållandet 1:10 för analysen, och den linjära regressionskurvan ger en koncentration på 20 ng SC5b-9/mL, så är koncentrationen SC5b-9 i provet 200 ng SC5b-9/mL (eller 20 x 10).

För att få korrekta SC5b-9-koncentrationsbestämningar för testprover som ger A₄₅₀-värden över det för SC5b-9-standard E (eller som ger A₄₅₀-värden mindre än LLOQ-värdet) kan proven analyseras om med en annan spädningsgrad, så att de nya A₄₅₀-värdena hamnar innanför dessa gränser. Vid alla upprepade analyser så måste även SC5b-9-standarderna och kontrollerna testas.

Validering

Bestäm lutningen, avskärningen och korrelationskoefficienten för den härledda linje som passar in bäst för SC5b-9 A-, B-, C-, D- och E-standarderna. Värdena måste hamna inom de specificerade intervallen för att kvalificera analysen:

| |
|--|
| korrelationskoefficient (r): > 0,95 |
| lutning (m): 0,0039 till 0,0123 |
| y-skärningspunkt (b): (-)0,189 till (+)0,201 |

Se analyscertifikatet angående godtagbart intervall för SC5b-9-koncentrationer för låga och höga kontroller.

BEGRÄNSNINGAR

MicroVues enzymimmunoanalys för SC5b-9 Plus har använts för att testa prover som tagits som serum eller som plasma i EDTA och citrat. Andra antikoagulanter har inte testats.

PROVVÄRDEN

EDTA plasma och serum från fyrtio (40) normala donatorer testades med SC5b-9 Plus EIA-setet. Resultaten presenteras nedan:

| | n | Medeltal (ng/ml) | Intervall: $\pm 2SD$ (ng/ml) |
|--------------------|----|---------------------|---------------------------------|
| EDTA Plasma | 40 | 147 | 75 till 219 |
| medeltal och serum | 40 | 356 | 187 till 525 |

OBS: Standardavvikelsen (SD) för koncentrationer av SC5b-9-komplex, som bestäms för plasma- eller serumprover, kan variera mellan olika laboratorier. Det rekommenderas därför att varje laboratorium bestämmer sina egna normalintervall. Värdena ovan bör enbart betraktas som riktgivande.

TESTPRESTANDA

Gränser

LOD: Detekteringsgränsen (limit of detection - LOD) för SC5b-9 Plus-analysen är 3,7 ng/mL, fastställd av den övre 3SD-gränsen i en nollstandardstudie.

LLOQ: Den undre kvantitetsgränsen (lower limit of quantitation - LLOQ) för SC5b-9-analysen är 8,8 ng/mL, och utgör den lägsta koncentrationen på standardkurvan som uppfyllde NCCLS-kriterierna för noggrannhet och precision.

Interfererande Substanser

Följande substanser har testats vid angivna koncentrationer med avseende på interferens med analysen och funnits vara utan interferens.

| Prov | 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 |

Precision

Precisionen inom respektive mellan körningar bestämdes genom analys av 20 upprepningar av 2 plasmaprover och 2 serumprover i 10 olika körningar.

| Prov | SC5b-9 (ng/mL) | Inom körning ¹ CV (%) | Mellan körningar ² CV (%) |
|--------|-------------------|-------------------------------------|---|
| 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 |

¹n = 20 upprepningar ²n = 10 körningar

Linjäritet

Linjäriteten kontrollerades genom blandning av ett hövt plasmaprov med ett lågt plasmaprov i olika kombinationer, för att få fram analyter på mellannivån. Den genomsnittliga återhämtningen var 94 %, med ett absolut intervall på 86-104%.

SUPPORT

Utanför USA: kontakta en lokal distributör för Quidel-produkter. Ytterligare information om Quidel, våra produkter eller distributörer finns på vår hemsida quidel.com.

REFERENSER

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 är ett varumärke som tillhör Quidel Corporation. Alla andra varumärken som förekommer i detta dokument tillhör sina respektive ägare och deras användning här innebär inte någon underförstådd sponsring eller godkännande av några produkter eller tjänster.

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

PIA029002SV00 (09/21)

ORDLISTA

REF

Katalognummer



CE-märkning om överensstämmelse

EC REP

Auktoriserad representant inom europeiska gemenskapen

LOT

Satskod



Använd före



Tillverkare



Temperaturbegränsning



Avsedd användning



Konsultera e-märkning bruksanvisning



Biologisk risk

IVD

För *in vitro*-diagnostik



Innehållet räcker till 96 bestämningar

CONT

Innehåll/innehåller

CONTROL

Kontroll
