

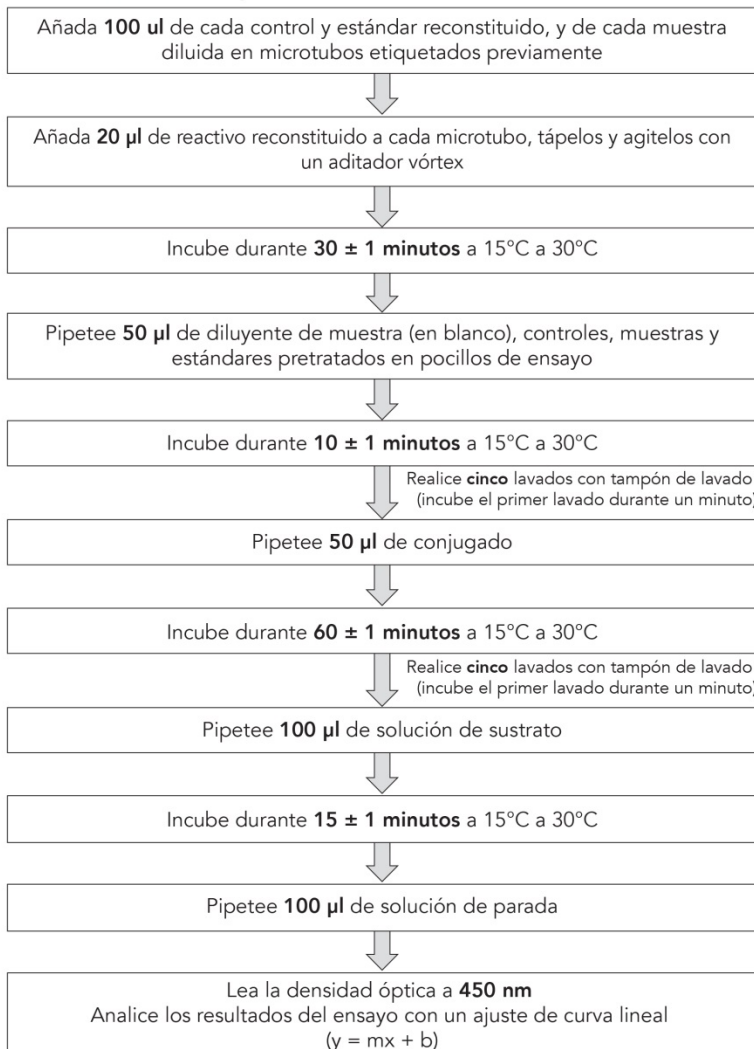
**Inmunoensayo enzimático para medir la cantidad de proteínas de tipo inhibidor de C1 funcional en el plasma o suero humano**

**RESUMEN**

**Reactivo, estándares, controles y preparación de muestras**

- Diluya el concentrado de tampón de lavado a 1:20 con agua desionizada
- Diluya el concentrado diluyente de muestras a 1:5 con agua desionizada
- Reconstituya cada uno de los estándares y controles con 1,0 ml de reactivo hidratante (*deje reposar durante 15 minutos y, después, mezcle completamente*)
- Reconstituya el reactivo inhibidor de C1 con 0,5 ml de reactivo hidratante (agite suavemente con movimientos circulares y deje reposar durante 15 minutos) (con 1 vial se pueden tratar 25 muestras de prueba aproximadamente)
- Diluya el diluyente de muestras a 1:101 con diluyente de muestras 1X (*por ejemplo, 10 µl + 1 ml*)

**Procedimiento del ensayo**





## USO PREVISTO

El inmunoensayo enzimático MicroVue C1-Inhibitor mide la cantidad de proteínas del tipo inhibidor de C1 funcional en el plasma o suero humano

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El inhibidor de C1 (C1-INH) es un inhibidor de proteasa multiespecífico, presente normalmente en el suero y plasma humanos, que regula las enzimas del sistema de complemento, el sistema de coagulación, el sistema fibronolítico y el sistema formador de quinine.<sup>1</sup> Las enzimas (proteasas) reguladas por esta proteína incluyen las subunidades de C1r y C1s del primer componente activado del complemento, el factor Hageman activado (factor XIIa), fragmentos del factor Hageman, antecedente tromboplastínico del plasma activado (PTA o factor XIa), calicreína (factor Fletcher) y plasmina.<sup>2</sup>

Una deficiencia de C1-INH funcionalmente activo puede ocasionar un angioedema mortal. Se han informado dos tipos principales de deficiencia de C1-INH: de tipo congénito, denominado angioedema hereditario (AHE).<sup>3,4</sup> y de tipo adquirido, asociado a distintas enfermedades, incluyendo los linfomas malignos.<sup>5</sup> El angioedema hereditario se caracteriza por ataques transitorios, pero recurrentes, de tumefacción sin prurito de diferentes tejidos en todo el cuerpo. La sintomatología depende de los órganos afectados. Los ataques intestinales conllevan síntomas muy diversos, como dolores, calambres, vómitos y diarrea. La causa de muerte más frecuente en los pacientes que padecen esta enfermedad es la obstrucción de la entrada de aire tras un edema laríngeo durante un ataque. Existen dos tipos de angioedema hereditario que se pueden diferenciar bioquímicamente. Los pacientes con el tipo más frecuente (el 85% de los pacientes con AHE) poseen bajos niveles de C1-INB funcional y antígeno de C1-INH. Los pacientes que padecen el segundo tipo de angioedema (el 15% de los pacientes con AHE) poseen niveles bajos de C1-INH funcional, pero presentan niveles normales o altos de antígeno de C1-INH, lo que se asocia a una proteína disfuncional.<sup>6</sup>

La naturaleza variable de los síntomas en distintos periodos durante la evolución de la enfermedad impide realizar un diagnóstico definitivo basándose únicamente en la observación clínica. Solo es posible diagnosticar de manera definitiva el angioedema hereditario o adquirido mediante pruebas de laboratorio que demuestren una reducción acusada en los niveles de C1-INH funcional en el plasma o suero del paciente.

Se han informado varios métodos para medir los niveles de antígeno de C1-INH o C1-INH funcional. Estos métodos incluyen ensayos de inhibición enzimática,<sup>7,8</sup> inmunodifusión radial,<sup>9</sup> inmunoelectroforesis e inhibición de inmunohemólisis.<sup>10</sup> Todos estos métodos presentan desventajas. Los ensayos de inhibición enzimática<sup>7</sup> son difíciles de preparar y realizar de manera rutinaria; los métodos inmunoquímicos, los cuales miden la cantidad total de antígeno, no distinguen entre proteínas C1-INH funcionales y no funcionales; por último, el método de inmunodifusión anti-C1r,<sup>9</sup> diseñado para medir la actividad de C1-INH funcional, no es cuantitativo. El ensayo de MicroVue es capaz de medir cuantitativamente el nivel de proteínas C1-INH funcionalmente activas presentes en el plasma o suero de un paciente utilizando un procedimiento de inmunoensayo enzimático práctico, estandarizado y repetible.

## PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El inmunoensayo enzimático MicroVue C1-Inhibitor Plus para la cuantificación de las proteínas funcionales inhibidoras de C1 (inhibidoras de proteasa) en el suero o plasma humano es un procedimiento que consta de cuatro pasos. En el primer paso, se incuban los estándares, controles y muestras con reactivo inhibidor de C1 (C1s biotinilado y activado). Durante esta incubación, el C1-INH funcionalmente activo presente en los estándares, controles y muestras se unirá al reactivo inhibidor de C1 para formar compuestos.

En el segundo paso, se añade una alícuota de las mezclas de incubación que contienen reactivo inhibidor de C1 a los pocillos de la placa microtituladora prerrevestidos con avidina. Reactivo inhibidor de C1: Los

complejos de C1-INH presentes en los estándares, controles y muestras se unirán a los pocillos de microensayo revestidos con avidina. Después de la incubación, un ciclo de lavado elimina el material no unido.

En el tercer paso, el C1-INH antihumano de cabra conjugado con peroxidasa de rábano (HRP) se añade a cada pocillo de ensayo. Durante este paso, el HRP conjugado con anti-C1-INH se une al reactivo inhibidor de C1-: complejos de C1-INH capturados en la superficie de los pocillos de microensayo revestidos con avidina. Después de la incubación, un ciclo de lavado elimina el exceso de conjugado.

En el cuarto paso, se añade un sustrato de enzima cromogénico a cada pocillo de microensayo. El conjugado HRP unido reacciona con el sustrato y forma un color azul. Después de la incubación, la reacción enzimática se detiene químicamente, el color cambia a amarillo y la intensidad del color se mide espectrofotométricamente a 450 nm. La intensidad del color de la mezcla de reacción es proporcional a la concentración de proteína funcional C1-INH presente en las muestras, estándares y controles.

## REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS

El inmunoensayo enzimático de inhibidor de C1 contiene lo siguiente:

<b>A</b>	<b>Patrones C1-INH</b> (liofilizado). Al reconstituirlos, cada uno contiene una cantidad conocida de inhibidor de C1 en plasma humano, PBS, estabilizantes	<b>Cód. A4469-A44732</b>	<b>2 x 1 ml</b>
<b>L</b>	<b>Control anormal C1-INH (humano)</b> (lío filizado) Al reconstituirlos, cada uno contiene plasma humano con un nivel bajo de inhibidor de C1 en PBS, estabilizantes	<b>Cód. A9524</b>	<b>2 x 1 ml</b>
<b>H</b>	<b>Control Normal C1-INH (humano)</b> (lío filizado) Al reconstituirlos, cada uno contiene plasma humano con un nivel normal de inhibidor de C1 en PBS, estabilizantes	<b>Cód. A9523</b>	<b>2 x 1 ml</b>
<b>1</b>	<b>Placa de microensayo</b> Ocho tiras de pocillo revestidas con avidina en una bolsa metálica que se pueden volver a cerrar	<b>Cód. 4634</b>	<b>1 cada uno</b>
<b>2</b>	<b>Solución de parada</b> Contiene 1N (4%) de ácido hidroclicóric	<b>Cód. A9947</b>	<b>12 ml</b>
<b>3</b>	<b>Solución de lavado 20X concentrado</b> Al diluirlos, cada uno contiene solución salina tamponada con fosfato (PBS), Tween-20® al 0,05% y Proclin® 300 al 0,035%	<b>Cód. A9957</b>	<b>2 x 50 ml</b>
<b>4</b>	<b>Concentrado diluyente de muestras 5X</b> Al diluirlo, contiene PBD, estabilizantes y ProClin 300 al 0,035%	<b>Cód. A9519</b>	<b>25 ml</b>
<b>5</b>	<b>Sustrato TMB</b> Listo para usar. Contiene tetrametilbencidina (TMB) y peróxido de hidrógeno	<b>Cód. 5059</b>	<b>12 ml</b>
<b>6</b>	<b>Reactivo inhibidor de C1</b> Al reconstituirlos, cada uno contiene C1 <sup>5</sup> biotinilado (conjugado con biotina) y activado en PBS con estabilizantes	<b>Cód. A9527</b>	<b>4 x 0,5 ml</b>
<b>7</b>	<b>Conjugado inhibidor de C1</b> Contiene inhibidor de C1 antihumano (cabra) conjugado con peroxidasa en PBS, estabilizantes	<b>Cód. A9525</b>	<b>7 ml</b>
<b>8</b>	<b>Reactivo Hidratante</b> Contiene ProClin 300 al 0,035%	<b>Cód. A3675</b>	<b>25 ml</b>

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

- Temporizador (de 60 minutos)
- Calculadora u otro método de cálculo para validar el ensayo
- Placas de microensayo sin usar y limpias, y/o tubos de ensayo y portatubos
- Recipiente para la solución del tampón de lavado
- Botella para lavado u otro sistema de lavado para inmunoensayos
- Pipeta multicanal ajustable (8 o 12 canales) o micropipetas de repetición (opcional)
- Pipetas limpias, 1 ml, 5 ml y 10 ml
- Micropipetas y puntas de pipetas
- Lector de placas apto para realizar lecturas de densidad óptica de  $A_{450}$  de entre 0,0 y 3,0
- Agua desionizada o destilada

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso Diagnóstico *in vitro*.
- Siga las precauciones universales cuando manipule componentes de este kit o muestras de pacientes.
- Deshágase de los recipientes y del contenido no utilizado de acuerdo con las normas estatales y locales.
- Use los reactivos como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Utilice ropa protectora adecuada, guantes y protección para ojos/cara cuando manipule el contenido del kit.
- Almacene los reactivos del ensayo como se indica.
- Cuando añada o aspire el líquido de los pocillos de microensayo, no raspe ni toque el fondo de los pocillos.
- El uso de tiempos y temperaturas de incubación que no sean los indicados en la sección Procedimiento puede generar resultados erróneos.
- No permita que se sequen los pocillos del microensayo una vez empezado el ensayo.
- No use un pocillo de microensayo para más de una prueba.
- Se recomienda el uso de pipetas multicanal o una pipeta de repetición para garantizar la administración adecuada de los reactivos.
- Para obtener una medición exacta de las muestras, añada las muestras y estándares de forma precisa. Pipetee cuidadosamente usando solo material calibrado.
- La obtención y conservación adecuadas de las muestras son esenciales para la exactitud de los resultados.
- Evite la contaminación microbiana o cruzada de muestras, reactivos y materiales. Es posible que se obtengan resultados incorrectos si se produce contaminación.
- La solución de parada se considera corrosiva y puede causar irritación. No se debe ingerir. Evite el contacto con los ojos, la piel y la ropa. En caso de contacto, lave inmediatamente el área afectada con agua. En caso de ingestión, avise a un médico.
- El ProClin 300 se usa como conservante. El contacto accidental o la ingestión de tampones o reactivos que contengan ProClin puede causar irritación de la piel, ojos o boca. Aplique prácticas de laboratorio recomendadas para reducir la exposición. Busque atención médica en caso de experimentar algún síntoma.
- El sustrato TMB tiene que estar protegido de la luz durante el almacenamiento y la incubación. Evite el contacto con los ojos, la piel y la ropa. En caso de contacto, lave inmediatamente el área afectada con agua.
- 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.
- Las muestras inactivadas por calor, hiperlipémicas o contaminadas pueden dar resultados erróneos.
- Es posible solicitar la hoja de datos de seguridad y también está disponible en el sitio web del producto.
- 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).

## ALMACENAMIENTO

Almacenar el kit sin abrir a 2°C a 8°C. Una vez que el kit esté abierto, es necesario mantener el concentrado de solución de lavado 20X y el reactivo hidratante a una temperatura de entre 2°C y 30°C.

Una vez que haya seleccionado los reactivos o materiales que utilizará en el ensayo, vuelva a guardar inmediatamente los reactivos sin usar, respetando sus temperaturas de conservación correspondientes. Los reactivos y materiales deben llevarse a temperatura ambiente (15°C a 30°C) antes de su uso.

## INDICACIONES DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

El enturbiamiento o la decoloración de la solución de lavado diluida indica un deterioro de este reactivo. Si esto ocurre, la solución debe desecharse.

## RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

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

El ensayo requiere al menos 10 µl de suero o plasma EDTA. Todas las muestras deben recolectarse de forma aséptica y prepararse mediante técnicas estándar para ensayos de laboratorio clínicos. Es preferible utilizar una muestra no hemolizada extraída recientemente. Una muestra de plasma EDTA puede conservarse a temperatura ambiente (15°C a 30°C) hasta 24 horas. Una muestra de suero no puede permanecer a temperatura ambiente durante más de seis horas. Si se prevé que el periodo de conservación será prolongado, la muestra de plasma o suero debe congelarse (a -20°C o a temperaturas inferiores). Evite congelar y descongelar las muestras de forma reiterada. Es necesario eliminar cualquier partícula que haya en la muestra mediante centrifugado a baja velocidad antes de realizar el ensayo.

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Los reactivos deben llevarse a temperatura ambiente (15°C a 30°C) antes de su uso. Después de su utilización, coloque de nuevo el kit en el refrigerador (2°C a 8°C). Después de retirar los reactivos y materiales necesarios, vuelva a colocar los artículos no utilizados a sus temperaturas de conservación adecuadas (vea *ALMACENAMIENTO*). Consulte la tabla para ver las cantidades necesarias de reactivos y materiales.

### 1. Solución de lavado

Mezcle el concentrado de solución de lavado 20X al invertir la botella varias veces. Si el concentrado de solución de lavado 20X se ha conservado a 2°C a 8°C, es posible que se hayan formado cristales. Para disolver los cristales, caliente la botella a baño maría a 37°C a 50°C hasta que se disuelvan. Mezcle bien. Prepare la solución de lavado para lavar los pocillos de microensayo diluyendo el contenido completo de una de las botellas 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 cuando se conserva en un recipiente limpio a 2°C a 8°C. Si se produce decoloración o enturbiamiento, deseche el reactivo.

### 2. Selección de las tiras de microensayo

Determine el número de muestras que se analizarán y añada quince (15) pocillos para los cinco estándares, controles normales y anormales que se analizarán (por duplicado), y un pocillo en blanco. Es recomendable analizar los controles y estándares duplicados en tiras de microensayo diferentes, siempre que sea posible. En función del número de pocillos que necesite, extraiga el correspondiente número de tiras. Fije las tiras seleccionadas que se utilizarán a la placa de ensayo. Coloque de nuevo las

tiras que no sean necesarias en la bolsa de almacenamiento, cierre la bolsa y consérvela a una temperatura de 2°C a 8°C.

### 3. Reconstitución de estándares, controles y reactivos del inhibidor de C1

Añada 1 ml de reactivo hidratante en cada vial estándar (A-E) y en cada control. Añada 0,5 ml de reactivo hidratante a cada vial de reactivo de inhibidor de C1 necesario. (Con un vial se pueden tratar 25 muestras aproximadamente.) Permita que los viales reconstituidos se rehidraten durante al menos 15 minutos a una temperatura de 15°C a 30°C y, a continuación, mezcle completamente. Evite la formación de espuma o burbujas al mezclar. Los estándares y controles reconstituidos son estables durante 30 días si se almacenan a una temperatura de 2°C a 8°C. **NOTA: no es necesaria una dilución adicional de los estándares y controles reconstituidos antes de realizar el ensayo.** Dado que se proporcionan cuatro (4) viales de reactivo inhibidor de C1, el usuario puede realizar hasta cuatro (4) ensayos diferentes con los materiales incluidos en el kit. **El reactivo inhibidor de C1-reconstituido es estable durante veinticuatro (24) horas a una temperatura de 2°C a 8°C y durante dos (2) horas a una temperatura de 15°C a 30°C.**

### 4. Preparación del diluyente de muestras 1X

Para determinar la cantidad necesaria de diluyente de muestras 1X, consulte la Tabla 1. Prepare la cantidad necesaria de diluyente de muestras 1X al mezclar los volúmenes indicados de agua destilada o desionizada y concentrado de diluyente de muestras 5X.

**Tabla 1**  
**Diluyente De Muestras 1X (requisitos y preparación)**

Cant. de tiras	Diluyente de muestras 1X necesario (ml)	Volumen necesario de reactivos	
		Agua (ml)	Diluyente de muestras 5X (ml)
2	6	4,8	1,2
3	15	12,0	3,0
4	22	17,6	4,4
5	30	24,0	6,0
6	38	30,4	7,6
7	46	36,8	9,2
8	54	43,2	10,8
9	62	49,6	12,4
10	70	56,0	14,0
11	78	62,4	15,6
12	86	68,8	17,2

### 5. Dilución de las muestras

Determine el número (N) de muestras que se analizarán. Etiquete los tubos de ensayo al enumerarlos del n.º 1 al n.º N y apunte qué muestra corresponde a cada tubo. Prepare 1 ml de una disolución a 1:101 (10 µl de muestra en 1 ml de diluyente de muestras 1X) con cada muestra utilizando diluyente de muestras 1X. Mezcle completamente, pero evite la formación de espuma y burbujas. No guarde ni reutilice las muestras diluidas.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

**Lea todo el prospecto del producto antes de comenzar el ensayo.**

**Consulte la sección PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS antes de empezar.**

1. Registre en una hoja de datos las posiciones de los pocillos del microensayo correspondientes a todas las muestras de prueba, estándares y controles, así como los números de lote indicados en las etiquetas de los viales. Etiquete una de las esquinas de la placa de microensayo para su orientación.
2. Tratamiento de estándares, controles y muestras de ensayo con reactivo de inhibidor de C1:-

- a. Añada 100 µl de cada estándar de inhibidor de C1 reconstituido (A, B, C, D y E) a los microtubos etiquetados previamente.
- b. Añada 100 µl del control anormal de inhibidor de C1 y 100 µl del control normal del inhibidor de C1 a los microtubos etiquetados previamente.
- c. Añada 100 µl de la disolución a 1:101 de cada muestra de paciente (consulte la sección *Disolución de las muestras*, apartado número 5 de la sección *PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS*) a un microtubo etiquetado previamente.
- d. Añada 20 µl de reactivo de inhibidor de C1 recién reconstituido a los microtubos que contienen estándares, controles y muestras de ensayo diluidas. Mezcle cada microtubo con el agitador vórtex.
- e. Incube los microtubos a 15°C a 30°C durante 30 ± 1 minutos.
3. En función de los requisitos del lector de placas del inmunoensayo enzimático, seleccione uno o más pocillos como pocillos en blanco y añada 50 µl de diluyente de muestras 1X a estos pocillos de microensayo.
4. Añada 50 µl de cada control y estándar tratado con reactivo de inhibidor de C1 (paso 2) a los pocillos de microensayo asignados duplicados. Añada 50 µl de cada muestra tratada con reactivo de inhibidor de C1 (paso 2) a su pocillo de microensayo asignado.
5. Incube a 15°C a 30°C durante 10 ± 1 minutos.
6. Lave los pocillos de microensayo de la siguiente manera:
 

**Nota: el lavado de los pocillos del microensayo es un paso fundamental. Siga atentamente las instrucciones del procedimiento de lavado.**

  - a. Tras la incubación en el paso 5 (o en el paso 8, a continuación), extraiga el contenido de cada pocillo.
  - b. Rellene todos los pocillos con solución de lavado (300 µl aproximadamente) utilizando una botella de lavado u otro dispositivo de llenado.
  - c. Incube los pocillos durante un minuto a 15°C a 30°C.
  - d. Elimine el contenido de cada pocillo.
  - e. Rellene todos los pocillos con solución de lavado (300 µl aproximadamente).
  - f. Elimine el contenido de cada pocillo.
  - g. Repita los pasos e-f tres veces más.**
  - h. Después del quinto ciclo de lavado, invierta la placa y dé golpes secos sobre papel absorbente dos veces para sacar todo el líquido residual. **No permita que los pocillos se sequen.**
7. Con una pipeta de repetición o multicanal, vierta 50 µl de conjugado de inhibidor de C1 en cada pocillo de prueba lavado, incluido(s) el (los) pocillo(s) en blanco.
8. Incube las tiras de microensayo a 15°C a 30°C durante 60 ± 1 minutos.
9. Lave los pocillos de microensayo después de la incubación de 60 minutos (paso 8), como se describe en el *PROCEDIMIENTO DE ENSAYO*.
10. Inmediatamente después del lavado, añada 100 µl de la solución de sustrato TMB en cada pocillo, blanco(s) incluido(s).
11. Incube las tiras de microensayo a 15°C a 30°C durante 15 minutos.
12. Añada 100 µl de la 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 en la misma proporción que la solución de sustrato. Golpee suavemente la placa sobre la mesa de trabajo para dispersar la evolución uniforme del color del sustrato.
13. Determine la lectura de absorbancia a 450 nm (un valor de  $A_{450}$ ) para cada pocillo de prueba dentro de la hora siguiente a la adición de la solución de parada (paso 12), realizando la corrección en blanco de acuerdo con el sistema espectrofotométrico en uso.
14. Deseche las restantes muestras diluidas, controles, sustrato, conjugado, reactivo de inhibidor de C1 y tiras de microensayo usadas (consulte la sección de *ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES*). Conserve el soporte y el retenedor de las tiras para futuros usos.

## CONTROL DE CALIDAD

Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles para garantizar que el ensayo se está llevando a cabo correctamente. Cada kit C1-Inhibitor Plus contiene controles normales y anormales que se pueden utilizar con esta finalidad. Es necesario analizar estos controles al menos una vez en cada grupo de

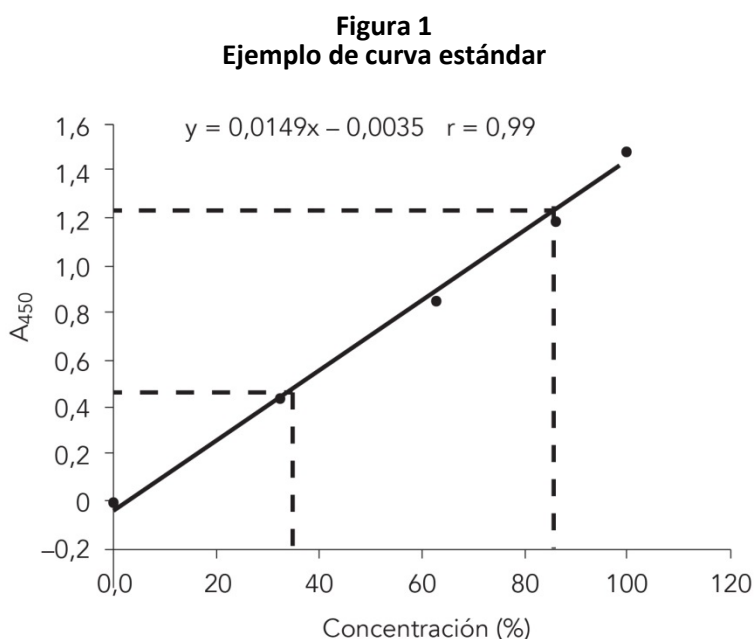
muestras, es decir, en cada ciclo de ensayo independiente. Los controles, si se utilizan de acuerdo con las instrucciones, proporcionan un porcentaje de valores normales medios dentro de los intervalos especificados en las etiquetas de sus viales. Dado que estos controles deben tratarse con reactivos y analizarse exactamente como una muestra típica, sirven como controles para cada ensayo con C1-Inhibitor Plus. También se pueden utilizar controles externos preparados por su laboratorio, que pueden ayudar a garantizar que el ensayo se está realizando correctamente.

Además, el prospecto del producto requiere que la curva estándar generada con los estándares A-E del kit cumpla estrictos requisitos de validación (consulte la sección *INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS*). Los estándares deben analizarse por duplicado en cada ciclo de ensayo. Si el ensayo no cumple con estos requisitos, repítalo o póngase en contacto con el Servicio de Asistencia Técnica de Quidel.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### Cálculo de los resultados

La curva estándar se genera usando los valores  $A_{450}$  para cada estándar (en el eje Y), previa sustracción del valor del blanco, y la concentración asignada a cada estándar (en el eje X). La curva estándar debe cumplir los requisitos de validación. La mayoría de ordenadores y calculadoras son capaces de realizar este cálculo. Ejemplo de una curva estándar típica (Figura 1).



El porcentaje de concentración para cada muestra se calcula a partir de la curva estándar mediante un análisis de regresión lineal.

### Validación

Determine la pendiente, intersección y coeficiente de correlación de la línea de ajuste óptimo derivada. Los valores deben encontrarse dentro de los siguientes intervalos para aprobar el ensayo:

coeficiente de correlación (r):	mayor que 0,95
pendiente (m):	0,0107 a 0,0262
intersección y (b):	-0,1685 a 0,0910



## Interpretación

La concentración de C1-INH funcional en una muestra determinada se muestra como el porcentaje del nivel medio en muestras normales. En base a una muestra de 100 sujetos normales que fueron analizados por tres técnicos, se determinó un nivel normal medio de C1-INH funcional con este ensayo (consulte la sección *CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO, Exactitud*). El porcentaje de valores normales medios para una muestra de ensayo dada, diluida a 1:101, se determina según lo especificado en la sección *Cálculo de los resultados*.

## Resultados anormales

Las concentraciones de C1-INH menores o iguales al 40% del valor medio se consideran significativamente inferiores a los valores normales, con lo que deben considerarse anormales. Las muestras que continúan siendo equívocas tras repetir el ensayo (consulte el siguiente apartado) también se deben considerar anormales.

## Resultados equívocos

Las concentraciones de C1-INH incluidas en el intervalo de 41-67% del valor medio, aunque son inferiores a los valores considerados normales, no son significativamente inferiores a los valores normales y, por tanto, se consideran resultados equívocos. Estas muestras se pueden analizar de nuevo o es posible extraer una nueva muestra y analizarla. Si con una muestra equívoca se obtiene el mismo resultado tras un nuevo análisis, la muestra se considera significativamente inferior a los valores normales y debe considerarse anormal.

## Resultados normales

Las concentraciones mayores o iguales al 68% de la media normal se consideran normales.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El inmunoensayo enzimático de MicroVue C1-Inhibitor Plus se ha utilizado para analizar muestras recogidas, como suero o como plasma en EDTA. No se han analizado otros anticoagulantes distintos al EDTA.

## VALORES ESPERADOS

Cien (100) muestras de suero normales, cuarenta y nueve (49) de ellas pertenecientes a niños, y cincuenta y una (51) a sujetos adultos, se analizaron con el inmunoensayo enzimático para el inhibidor de C1 de MicroVue. No se detectaron diferencias significativas entre las muestras de adultos y niños. La concentración media de proteínas C1-INH en estas muestras se definió como el 100% del valor medio normal (desviación estándar = 15,8%).

Se recogieron pares de muestras de suero y plasma EDTA de quince (15) sujetos adultos normales y se analizaron en el ensayo. No se detectaron diferencias significativas entre estos tipos de muestras. En el ensayo, se analizaron las muestras de veintiocho (28) pacientes con deficiencia documentada del inhibidor de C1. Estas muestras se obtuvieron en distintos centros situados en diferentes zonas geográficas de Estados Unidos. Los veintiocho pacientes presentaban niveles de C1-INH significativamente inferiores al nivel normal medio. Estos datos se recogen en la Tabla 2.

**Tabla 2**  
**Pacientes Con Angioedema**

Paciente n.º	Centro	Porcentaje del valor normal medio (%)	Interpretación
1P*	A	19	anormal
1S*	A	37	anormal
2**	A	0	anormal
2**	A	6	anormal
3	A	0	anormal
4	A	17	anormal
5	A	6	anormal
6	A	0	anormal
7	A	0	anormal
8†	A	56	anormal
9†	A	61	anormal
10	B	8	anormal
11	C	0	anormal
12	D	28	anormal
13	D	14	anormal
14	D	32	anormal
15	D	21	anormal
16†	D	45	anormal
17	D	3	anormal
18	D	24	anormal
19	E	0	anormal
20	E	0	anormal
21	E	2	anormal
22	E	13	anormal
23	E	17	anormal
24	E	19	anormal
25	E	4	anormal
26	E	3	anormal
27†	E	44	anormal
28	E	0	anormal

\* 1S es el suero y 1P el plasma EDTA, extraídos de un paciente en el mismo momento

\*\*Las dos muestras del paciente 2 se obtuvieron con tres años de diferencia.

† Al repetir el ensayo, las muestras analizadas de estos pacientes dieron resultados equívocos y, por lo tanto, se clasificaron como resultados anormales.

## CARACTERÍSTICAS DE COMPORTAMIENTO

### Exactitud

Utilizando un modelo de regresión lineal, las concentraciones del inhibidor de C1 medidas en el inmunoensayo enzimático en quince sueros normales se asignaron en función de sus concentraciones determinadas mediante la técnica de inmunodifusión radial. La concentración de C1-INH en el estándar primario se determinó utilizando estándares del kit con valores asignados según el modelo de regresión lineal. Para comprobar la exactitud del modelo, también se realizaron seis determinaciones de la concentración de C1-INH mediante la técnica de inmunodifusión radial para el estándar primario. Estos dos métodos para medir las concentraciones de C1-INH no presentaron diferencias significativas. El valor medio obtenido para 100 muestras de suero normales en el inmunoensayo enzimático del inhibidor de C1 de MicroVue fue 182 µg/ml. Este valor concuerda con la concentración normal publicada de 180 µg/ml.

## Precisión

Se evaluaron tres lotes de kits. Cada lote fue analizado tres veces por un técnico diferente. Las muestras se analizaron por triplicado en cada uno de los nueve ciclos de ensayo. La Tabla 3 recoge la variación resultante de intraensayo e interensayo.

**Tabla 3**  
**Reproducibilidad del ensayo**

Tipo	Inhibidor de C-1 (%)	Intraensayo CV <sup>1</sup> (%)	Interensayo CV <sup>2</sup> (%)
Muestra 1	105,2	3,3	5,7
Muestra 2	78,54	4,0	5,7
Muestra 3	21,48	5,4	6,4
Muestra 4	16,42	5,1	10,0

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

## Especificidad

El C1-INH antihumano de cabra, utilizado para hacer el conjugado, se comparó con otro anticuerpo C1-INH aprobado por la FDA disponible en el mercado. Demostró una línea única de identidad en un ensayo de inmunodifusión. Además, el antisuero de Quidel se consideró monoespecífico para el C1-INH al compararlo en varias concentraciones con el suero humano normal recién extraído con 10 mM de EDTA mediante inmunodifusión doble, inmunoelectroforesis unidimensional y bidimensional, e inmunoelectroforesis en cohete.

## 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](mailto:customerservice@quidel.com) o a [technicalsupport@quidel.com](mailto: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](http://quidel.com).

## REFERENCIAS

1. Ratnoff, O.D., J. Pinsky, D. Ogston y G.B. Naff. The inhibition of plasmin, plasma kallikrein, plasma permeability factor, and C'1r subcomponent of the first component of complement by serum C'1 esterase inhibitor. *J. Exp. Med.* 129:315, 1969.
2. Travis, J. y G.S. Salvesen. Human plasma proteinase inhibitors. *Ann. Rev. Biochem.* 52:655,1983.
3. Donaldson, V.H. y R.R. Evans. A biochemical abnormality in hereditary angioneurotic edema. Absence of serum inhibitor of C'1-esterase. *Am. J. Med.* 35:37, 1963.
4. Rosen, F.S., C.A. Alper, J. Pinsky, M.R. Klemperer y V.H. Donaldson. Genetically determined heterogeneity of the C1 esterase inhibitor in patients with hereditary angioneurotic edema. *J. Clin. Invest.* 50:2143, 1971.
5. Gelfand, J.A., G.R. Boss, C.L. Conley, R. Reinhart y M.M. Frank. Acquired C1 esterase inhibitor deficiency and angioedema: a review. *Medicine.* 58:321,1979.
6. Kerr, M.A. y A.A.C. Yeung-Laiwah. C1-Inhibitor deficiency and angioedema. En: *Complement in Health and Disease*, ed. K. Whaley, MTP Press Limited, p. 53,1987.
7. Donaldson, V.H. Serum inhibitor of C'1-esterase in health and disease. *J. Lab. Clin. Med.* 68:369,1966.
8. Levy, L.R. y I.H. Lepow. Assay and properties of serum inhibitor of C1-esterase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 101:608, 1959.

9. Ziccardi, R.J. y N.R. Cooper. Development of an immunochemical test to assess C1 inactivator function in human serum and its use for the diagnosis of hereditary angioedema. *Clin. Immunol. Immunopath.* 15:465,1980.
10. Gigli, I., S. Ruddy y K.F. Austen. The stoichiometric measurement of the serum inhibition of the first component of complement by the inhibition of immune hemolysis. *J. Immunol.* 100(6): 1154, 1968.
11. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (sup. no. 2S):001.

**REF** A037 – MicroVue C1-Inhibitor 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)

**PIA037003ES00 (07/20)**

## 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

---