



QUIDEL

# MicroVue™ Complement

## Factor H EIA

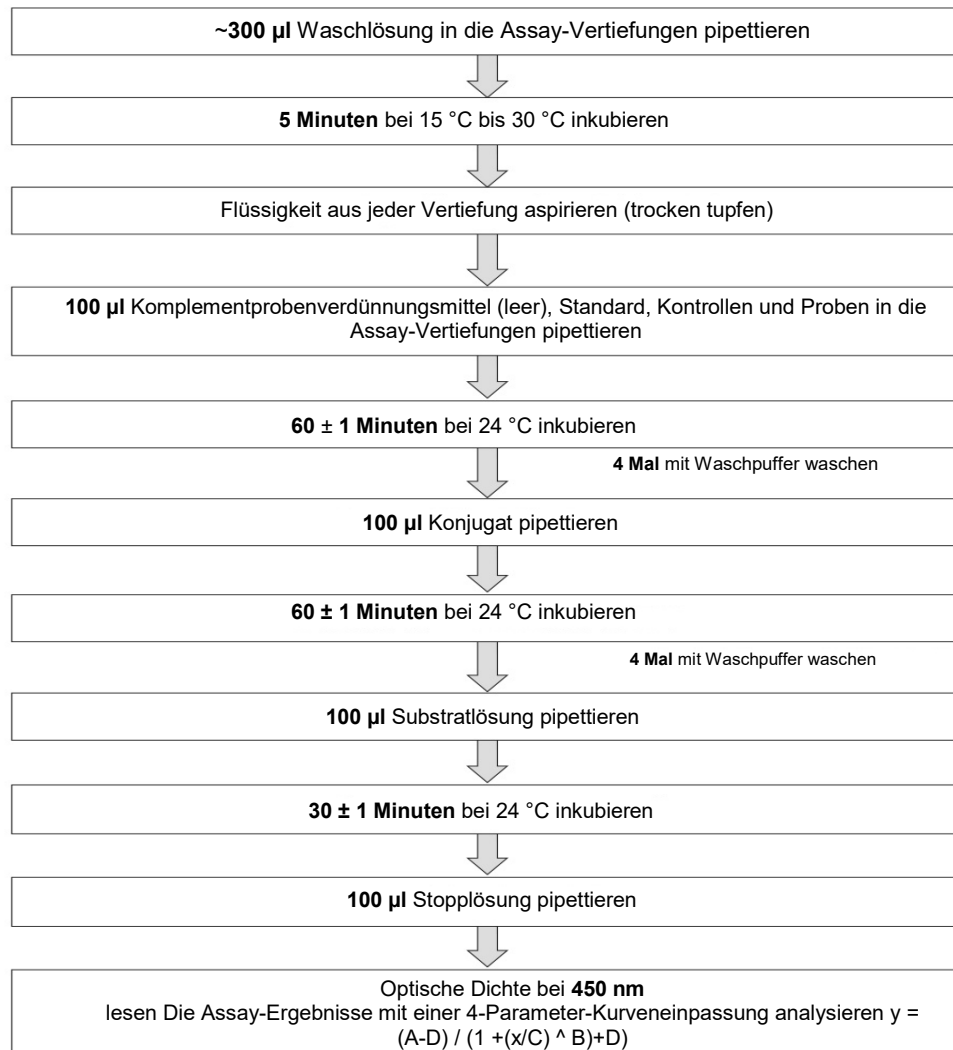
Ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Komplementfaktor H in humanem Plasma oder Serum.

### ZUSAMMENFASSUNG

#### Vorbereitung von Reagenzien, Standards, Kontrollen und Proben

- Waschlösungskonzentrat 1:20 mit VE-Wasser verdünnen
- Ansetzen der Probe (1:5000)
  - Verdünnung 1: Plasma- oder Serumproben 1:100 mit Komplementprobenverdünnungsmittel verdünnen (*10 µl Probe + 990 µl Komplementprobenverdünnungsmittel*)
  - Verdünnung 2: Probe aus Verdünnung 1 1:50 mit Komplementprobenverdünnungsmittel verdünnen (*10 µl von Lösung 1 + 490 µl Komplementprobenverdünnungsmittel*)

#### Assay-Verfahren





## VERWENDUNGSZWECK

Der MicroVue Factor H EIA ist ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Komplementfaktor H in humanem Plasma oder Serum.

## ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Der alternative Komplementsignalweg bietet einen körpereigenen Schutz gegen Mikroben in Abwesenheit eines bestimmten Antikörpers.<sup>1-5</sup> Die Aktivierung dieses Komplementsignalwegs kann durch verschiedene Substanzen ausgelöst werden, darunter mikrobielle Polysaccharide oder Lipide, gramnegative bakterielle Lipopolysaccharide und Oberflächendeterminanten, die auf bestimmten Viren, Parasiten, mit Viren infizierten Säugetierzellen und Krebszellen vorhanden sind. Bei Vorhandensein einer Autoimmunkrankheit kann der alternative Komplementsignalweg direkt zur Gewebeschädigung beitragen. Faktor H ist an der Regulierung des alternativen Komplementsignalwegs beteiligt. Im Blut wird die Aktivierung von C3 unter normalen Bedingungen von Kontrollproteinen, Faktor H und Faktor I auf niedrigem Niveau gehalten. Faktor H fungiert auf zweierlei Weise, um das C3bBb-Enzym zu deaktivieren: 1) Er beschleunigt die Dissoziation von Bb von C3b; und 2) er fungiert als Kofaktor für Faktor I, eine Serinprotease, die C3b in iC3b spaltet, das nicht mehr in der Lage ist, die C3-Konvertase mit Faktor B zu bilden.<sup>6</sup>

Faktor H reguliert zudem die spontane Aktivierung der flüssigen Phase des alternativen Komplementsignalwegs durch C3b-ähnliche Formen von C3, die im Plasma und Serum kontinuierlich gebildet wird. Deshalb kommt es beim Absinken der Faktor-H-Konzentration unter den normalen Wert zu einer rapiden Aktivierung der flüssigen Phase und zum schnellen Verbrauch der Komplementkomponenten, sowohl *in vivo* als auch *in vitro*.<sup>9</sup>

Faktor H ist ein einkettiges Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von 150 KD.<sup>7</sup> Die Konzentration in normalem humanem Plasma/Serum beträgt rund 500 µg/ml, kann jedoch aufgrund unterschiedlicher Faktoren (Umwelt und genetisch) im Bereich von 116-562 µg/ml liegen.<sup>7</sup> Faktor H reguliert die Komplementaktivierung auf der Zelloberfläche und in der flüssigen Phase und ist an Funktionen sowohl in alternativen als auch klassischen Signalwegen beteiligt.

Faktor H wird hauptsächlich in der Leber produziert. Er kann jedoch unter anderem auch lokal durch endotheliale Zellen, Epithelzellen, Thrombozyten und mesenchymale Stammzellen exprimiert werden<sup>7</sup>

Bekannte Faktor-H-Konzentrationen helfen bei der Diagnose mehrerer Krankheitszustände, wie dem atypischen hämolytisch-urämischen Syndrom (aHUS), altersbezogener Makuladegeneration und MPGN II (Dense Deposit Disease). Komplementfaktor H wurde in Forschungsarbeiten zu zahlreichen Autoimmunkrankheiten einbezogen. Faktor H wurde in Studien als Serum-Biomarker für den Multiple-Sklerose-Krankheitsstatus, als Therapie bei Nierenerkrankungen in Zusammenhang mit Faktor-H-Anomalien und als Tarnung für Tumorzellen zum Schutz gegen das Immunsystem des Wirts einbezogen. Diese vielseitigen Untersuchungen machen Faktor H attraktiv für zahlreiche Forschungsunterfangen.

## GRUNDLAGEN DES VERFAHRENS

MicroVue Factor H EIA ist ein dreistufiges Verfahren, das (1) eine mit murinem monoklonalem Antikörper beschichtete Mikroassay-Platte, die speziell an humanen Faktor H bindet, (2) einen murinen HRP-konjugierten anti-humanen Faktor H und (3) ein chromogenes Substrat nutzt.

Im ersten Schritt werden Standards, Kontrollen und Testproben in Mikroassay-Vertiefungen gegeben, die mit einem bestimmten monoklonalen Antikörper gegen Faktor H vorbeschichtet sind. Faktor H, der in den

Standards, Kontrollen oder Proben vorhanden ist (aber keine anderen Komplementaktivierungsprodukte), werden an den immobilisierten monoklonalen Antikörper gegen Faktor H binden. Nach der Inkubation wird nicht gebundenes Material im Waschzyklus entfernt.

Im zweiten Schritt wird Meerrettichperoxidase-(HRP)-konjugierter muriner Anti-Faktor-H-Antikörper in jede Testvertiefung gegeben. Der enzymkonjugierte Anti-Faktor-H bindet mit dem Faktor H in den Mikroassay-Vertiefungen. Nach der Inkubation wird nicht gebundenes, überschüssiges Konjugat im Waschzyklus entfernt.

Im dritten Schritt wird ein chromogenes Enzymsubstrat zu jeder Mikroassay-Vertiefung hinzugefügt. Das gebundene HRP-Konjugat reagiert mit dem Substrat und bildet eine blaue Farbe. Nach der Inkubation wird die Enzymreaktion chemisch angehalten, die Farbe ändert sich zu Gelb und die Farbintensität wird fotospektrometrisch bei 450 nm gemessen. Die Farbintensität der Reaktionsmischung ist proportional zur Konzentration von Faktor H in den Testproben, Standards und Kontrollen.

## BEREITGESTELLTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

### 96 Assays für Faktor H

#### Der MicroVue Factor H EIA Kit enthält Folgendes:

<b>A Faktor-H-Standards:</b>	<b>Teil A9848 bis A9852</b>	<b>je 1 ml</b>
<b>B</b> Jeder enthält eine bekannte Konzentration von Faktor H in humanem Serum, verdünnt in PBS,		
<b>C</b> Proteinstabilisatoren, 0,05 % Tween-20, 0,035 % ProClin® 300		
<b>D</b>		
<b>E</b>		
<b>L Faktor H niedrige Kontrollen</b>	<b>Teil A9853</b>	<b>1 ml</b>
Jeder enthält eine bekannte Konzentration von Faktor H in humanem Serum, verdünnt in PBS, Proteinstabilisatoren, 0,05 % Tween-20, 0,035 % ProClin® 300		
<b>H Faktor H hohe Kontrollen</b>	<b>Teil A9854</b>	<b>1 ml</b>
Jeder enthält eine bekannte Konzentration von Faktor H in humanem Serum, verdünnt in PBS, Proteinstabilisatoren, 0,05 % Tween-20, 0,035 % ProClin® 300		
<b>1 Mikroassay-Platte</b>	<b>Teil A9560</b>	<b>12 x 8 Vertiefungen</b>
12 Streifen mit je acht Vertiefungen mit gereinigtem murinem monoklonalem Antikörper speziell für humanen Faktor H in einem wiederverschließbaren Folienbeutel		
<b>2 Stopplösung</b>	<b>Teil A9947</b>	<b>12 ml</b>
Enthält 1N Salzsäure		
<b>3 20X konzentrierte Waschlösung</b>	<b>Teil A9957</b>	<b>50 ml</b>
Jede enthält phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS), 1,0 % Tween-20® und 0,035 % ProClin 300		
<b>4 Komplementprobenverdünnungsmittel</b>	<b>Teil A3670</b>	<b>2 x 50 ml</b>
Enthält PBS, 0,05 % Tween 20, 2,5 % Proteinstabilisatoren, 0,035 % ProClin300		
<b>5 TMB-Substrat</b>	<b>Teil 5059</b>	<b>12 ml</b>
Enthält 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidin (TMB) und Wasserstoffperoxid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )		
<b>6 Faktor-H-Konjugat</b>	<b>Teil A9855</b>	<b>12 ml</b>
Enthält murinen Meerrettichperoxidase-konjugierten Antikörper gegen humanen Faktor H, der in einem HRP-Stabilisierungspuffer mit Konservierungsstoff suspendiert ist		

Tween® 20 ist eine eingetragene Marke von ICI Americas Inc.

ProClin® ist eine eingetragene Marke von Rohm and Haas Company.

## BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

- Timer (bis 60 Minuten)
- Taschenrechner oder andere Berechnungsmethode zur Validierung des Assays
- Saubere, unbenutzte Mikroassay-Platten und/oder Reagenzgläser und Ständer
- Behälter für die Waschlösung
- Waschflasche
- Einstellbare Mehrkanal-Pipette (8 oder 12 Kanäle) oder Repeater-Mikropipetten (optional)
- Saubere Pipetten, 1 ml, 5 ml und 10 ml
- Mikropipetten und Pipettenspitzen
- Plattenleser, der Messungen der optischen Dichte zwischen 0,0 und 3,0 zulässt
- Deionisiertes oder destilliertes Wasser
- Spektrophotometer, der Messungen bei 450 nm zulässt

## WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik.
- Behandeln Sie Proben als möglicherweise biologisch gefährliches Material. Bei der Handhabung des Inhalts dieses Kits und von Patientenproben die allgemeinen Sicherheitsmaßnahmen beachten.
- Beim Umgang mit dem Inhalt dieses Kits geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- Behälter und ungebrauchte Inhalte gemäß den staatlichen, bundesstaatlichen und örtlichen Vorschriften entsorgen.
- Die bereitgestellten Reagenzien vor dem Verfallsdatum auf dem Verpackungsetikett als Einheit verbrauchen.
- Die Assay-Reagenzien wie angegeben aufbewahren.
- Die beschichteten Teststreifen nicht benutzen, wenn der Beutel beschädigt ist.
- Beim Hinzufügen oder Absaugen von Flüssigkeiten aus den Mikroassay-Vertiefungen nicht den Boden der Vertiefungen ankratzen oder berühren.
- Den Inhalt der Mikroassay-Vertiefungen nicht antrocknen lassen, nachdem der Assay begonnen hat.
- Jede Mikroassay-Vertiefung nur für einen Test verwenden.
- Die Verwendung von Mehrkanal- oder Repeater-Pipetten wird empfohlen, um eine zügige Abgabe von Reagenzien zu gewährleisten.
- Zur präzisen Messung von Proben müssen die Proben und Standards präzise zugegeben werden. Kalibrierte Geräte verwenden und vorsichtig pipettieren.
- Die ordnungsgemäße Abnahme und Aufbewahrung von Testproben ist für korrekte Ergebnisse unerlässlich (siehe *ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN*, Seite 6).
- Vermeiden Sie eine mikrobielle oder Kreuzkontamination der Proben, Reagenzien oder Materialien. Bei Kontamination kann es zu falschen Ergebnissen kommen.
- ProClin 300 wird als Konservierungsmittel verwendet. Ein versehentlicher Kontakt mit oder das Verschlucken von Puffern oder Reagenzien, die ProClin enthalten, kann Reizungen von Haut, Augen oder Mund verursachen. Wenden Sie eine gute Laborpraxis an, um das Risiko zu verringern. Suchen Sie einen Arzt auf, wenn Symptome auftreten.
- Das Substrat ist lichtempfindlich. Ein längerer Kontakt mit hellem oder direktem Licht ist zu vermeiden. Reagenzien vor Licht geschützt lagern, wenn sie nicht in Gebrauch sind.
- Zum Waschen der Platte sollte eine Waschflasche verwendet werden (*ASSAY-VERFAHREN*, Schritt 5). Für optimale Ergebnisse sollte zum Waschen von Mikroassay-Platten keine Mehrkanalpipette verwendet werden.
- Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.

- Bitte lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDB) auf [quidel.com](http://quidel.com), um weitere Informationen zu Gefahrensymbolen, Sicherheit, Handhabung und Entsorgung der Komponenten in diesem Kit zu erhalten.

## ANSETZEN VON REAGENZIEN

**Bringen Sie alle Reagenzien und Materialien vor der Verwendung auf 15 °C bis 25 °C.**

Bringen Sie nach der Entnahme der benötigten Reagenzien und Materialien nicht verbrauchte Artikel wieder auf die Lagerungstemperatur (siehe *AUFBEWAHRUNG*).

### Beschichtete Teststreifen

Bestimmen Sie, wie viele Vertiefungen für den Assay erforderlich sind. Entnehmen Sie die erforderliche Anzahl an Teststreifen für die gewünschte Anzahl von Vertiefungen. Befestigen Sie die zur Verwendung ausgewählten Teststreifen am Plattenrahmen. Legen Sie die nicht benötigten Teststreifen in den Aufbewahrungsbeutel zurück, verschließen Sie den Beutel und bewahren Sie ihn bei 2 °C bis 8 °C auf.

### Waschlösung

Setzen Sie die Waschlösung zum Waschen der Mikroassay-Vertiefungen an, indem Sie 50 ml des 20X Waschlösungskonzentrats so mit destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen, dass das endgültige Volumen ein (1) Liter beträgt. Vor der Verwendung gründlich mischen. Die Waschlösung ist 30 Tage haltbar, wenn sie bei 2 °C bis 8 °C in einem sauberen Behälter aufbewahrt wird. Wenn das Reagens trübe wird, muss es entsorgt werden.

### Verdünnung von Proben

Vorsicht: Biologische Proben stets als potentiell infektiöses Material behandeln.

Es wird empfohlen, dass humane Serum- oder Plasmaproben zur Verwendung im MicroVue Factor H EIA 1:5000 mit dem Probenverdünnungsmittel verdünnt werden.

- Verdünnung 1: Probe 1:100 mit Komplementprobenverdünnungsmittel verdünnen (10 µl Probe + 990 µl Komplementprobenverdünnungsmittel)
- Verdünnung 2: Probe aus Verdünnung 1 1:50 mit Komplementprobenverdünnungsmittel verdünnen (10 µl Lösung 1 + 490 µl Komplementprobenverdünnungsmittel)

### Hinzufügen von verdünnten Proben in die Mikrotiter-Vertiefungen

Zum Hinzufügen verdünnter Proben, Standards, Kontrollen und Puffer in die Vertiefungen können zwei (2) Methoden verwendet werden (siehe Schritt 3 des ASSAY-VERFAHRENS). Für kleine Assay-Läufe, bei denen nur wenige Proben getestet werden, können die verdünnten Proben und andere Reagenzien mit einer Mikropipette direkt in die zugewiesenen Vertiefungen gegeben werden (100 µl/Vertiefung). Für kleine oder große Läufe, aber ganz besonders für große, empfiehlt Quidel die Verwendung von Mehrkanal-Pipetten zum Hinzufügen von Proben wie folgt. **(Eine Mehrkanalpipette kann auch zum praktischen Hinzufügen von Konjugat, Substrat und Stopplösung verwendet werden).**

Um die Standards, Kontrollen und verdünnten Proben so schnell wie möglich in die Mikroassay-Vertiefungen zu geben, kann die Stempeltechnik verwendet werden. Anstatt je 100 µl Standard, Kontrolle oder verdünnte Probe einzeln in die mit Antikörpern beschichteten Vertiefungen zu geben, können 120-130 µl jeder Lösung dem gewünschten endgültigen EIA-Muster entsprechend in die einzelnen Vertiefungen einer Leerprobenplatte (nicht bereitgestellt) gegeben werden. Nachdem die zu testenden Lösungen den Mikroassay-Vertiefungen der Leerprobenplatte hinzugefügt wurden, transferieren Sie mit einer Multikanal-Mikropipette schnell 100 µl aus jeder Leerprobenvertiefung in die antikörperbeschichteten Vertiefungen. Um die Wahrscheinlichkeit einer Kreuzkontamination zu verringern, müssen die Pipettenspitzen jedes Mal gewechselt werden, wenn sich die Zusammensetzung der zu transferierenden Proben ändert.

## AUFBEWAHRUNG

Das ungeöffnete Kit bei 2 °C bis 8 °C aufbewahren. Wenn das Kit geöffnet ist, kann das 20X Waschlösungskonzentrat bei 2 °C bis 25 °C aufbewahrt werden.

Alle Reagenzien müssen vor der Verwendung auf Raumtemperatur (15 °C bis 25 °C) gebracht werden. Legen Sie alle nicht benötigten Mikroassay-Teststreifen in den Aufbewahrungsbeutel zurück, verschließen Sie den Beutel und bewahren Sie ihn bei 2 °C bis 8 °C auf.

## ANZEICHEN EINER INSTABILITÄT ODER ZERSETZUNG DER REAGENZIEN

Eine Trübheit der Waschlösung ist ein Anzeichen dafür, dass sich das Reagens zersetzt. In diesem Fall ist die Lösung zu entsorgen.

## ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

**Wenden Sie bei der Handhabung und Entsorgung aller Proben stets die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen an.**

Die ordnungsgemäße Abnahme und Aufbewahrung von Proben ist von größerer Wichtigkeit.

Proben, die in Natriumzitratröhrchen abgenommen werden, führten zu Ergebnissen, die rund 14 % unter denen von passenden Serum- oder EDTA-Proben lagen, und sind für diesen Assay nicht zu empfehlen. In Lithiumheparin und Natriumheparin abgenommene Proben zeigten eine geringfügig höhere Replikationsvariabilität.

Serum- oder EDTA-Plasmaproben müssen unter Verwendung der Standardtechnik aseptisch abgenommen werden. Die Proben müssen sofort getestet und vor dem Assay bei 4 °C oder auf Eis maximal vier (4) Stunden lang aufbewahrt werden.

Eingefrorene Proben ( $\leq -70$  °C) in einem Wasserbad bei 37 °C schnell gerade bis zum Auftaupunkt bringen. Die aufgetauten Proben sofort auf Eis legen (maximal vier Stunden), um eine Komplementaktivierung vor der Verdünnung zu verhindern. **Die Proben nicht bei 37 °C belassen.** Die Proben nicht bei Raumtemperatur oder bei 4 °C auftauen, da dies zur Komplementaktivierung führen könnte. Gefrorene Proben sollten nach dem Auftauen so schnell wie möglich getestet werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden. Wenn Proben zur weiteren Analyse wieder eingefroren werden, empfehlen wir, mehrere Aliquote der Probe einzufrieren, um wiederholtes Einfrieren und Auftauen zu vermeiden.

## ASSAY-VERFAHREN

**Lesen Sie die gesamte Produktbeilage, bevor Sie mit dem Assay beginnen.**

**Siehe *WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN* und *ANSETZEN VON REAGENZIEN*.**

1. Zeichnen Sie die Positionen der Mikroassay-Vertiefungen mit den dazugehörigen Leerprobenvertiefungen, allen Testproben, den Standards und Kontrollen, sowie die Chargennummern auf den Röhrchenetiketten auf. Markieren Sie eine Ecke der Mikroassay-Platte zur Orientierung.
2. Bereiten Sie die Mikroassay-Streifen wie folgt vor:
  - a. Fügen Sie unter Verwendung einer Waschflasche oder eines automatischen Plattenwaschgeräts jeder Vertiefung rund 300 µl Waschlösung hinzu.
  - b. Fünf (5) Minuten bei 15 °C bis 30 °C inkubieren.
  - c. Aspirieren Sie den Inhalt aus allen Vertiefungen.
  - d. Drehen Sie die Platte um und klopfen Sie damit fest auf saugfähiges Papier, um Restflüssigkeit zu entfernen.

3. Fügen Sie 100 µl Probenverdünnungsmittel (leer), Standards, Kontrollen oder verdünnte Proben zu den zugewiesenen Vertiefungen hinzu.
4. 60 ± 1 Minuten lang bei 22 °C bis 28 °C inkubieren.
5. Waschen Sie die Mikroassay-Vertiefungen insgesamt 4 Mal aus und verwenden Sie dabei folgendes Verfahren:
  - a. Entfernen Sie den Inhalt aus allen Vertiefungen.
  - b. Fügen Sie unter Verwendung einer Waschflasche oder eines automatischen Plattenwaschgeräts jeder Vertiefung rund 300 µl Waschlösung hinzu.
  - c. Entfernen Sie den Inhalt aus allen Vertiefungen. (Trocken tupfen)
  - d. Fügen Sie jeder Vertiefung ca. 300 µl Waschlösung hinzu.
  - e. Entfernen Sie den Inhalt aus allen Vertiefungen.
  - f. **Wiederholen Sie die Schritte d und e zwei (2) weitere Male.**
  - g. Drehen Sie die Platte nach dem vierten Waschzyklus um und klopfen Sie damit fest auf saugfähiges Papier, um Restflüssigkeit zu entfernen. (Trocken tupfen)
6. Geben Sie mit einer Mehrkanalpipette oder Repeater-Pipette 100 µl Faktor-H-Konjugat in jede gewaschene Testvertiefung, einschließlich der Leerprobenvertiefungen.
7. Inkubieren Sie die Mikroassay-Teststreifen 60 ± 1 Minuten lang bei 22 °C bis 28 °C.
8. Waschen Sie die Mikroassay-Vertiefungen nach der 60-minütigen Inkubation (Schritt 7), wie unter *ASSAY-VERFAHREN*, Schritt 5 beschrieben.
9. Geben Sie unmittelbar nach dem Waschverfahren 100 µl TMB-Substratlösung in jede Vertiefung ab, einschließlich der Leerprobenvertiefungen.
10. Inkubieren Sie die Mikroassay-Teststreifen 30 ± 1 Minuten lang bei 22 °C bis 28 °C.
11. Fügen Sie zu jeder Vertiefung 100 µl Stopplösung hinzu, um die Enzymreaktion zu beenden. Die Stopplösung sollte in derselben Reihenfolge und mit derselben Rate in die Vertiefungen abgegeben werden, wie die Substratlösung.
12. Stoßen Sie die Platte behutsam auf die Arbeitsfläche, um die Farbentwicklung vollständig und gleichmäßig zu verteilen.
13. Bestimmen Sie den Absorbanzwert bei 450 nm für jede Testvertiefung innerhalb von 40 Minuten nach Hinzufügen der Stopplösung (Schritt 11) und nehmen Sie dabei die Leerprobenkorrektur gemäß des verwendeten fotospektrometrischen Systems vor.
14. Entsorgen Sie die restlichen verdünnten Proben, Kontrollen, Substrate und die benutzten Mikroassay-Teststreifen (siehe *WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN*).

## QUALITÄTSKONTROLLE

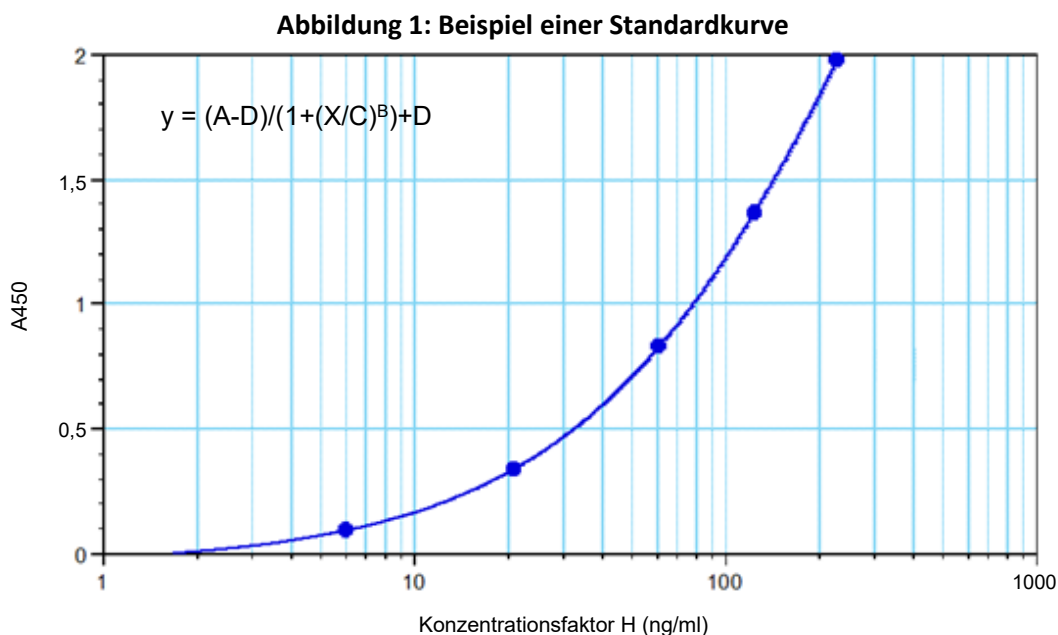
Das diesem Kit beiliegende Analysezertifikat ist chargenspezifisch und dient zur Verwendung bei der Erstellung der Standardkurve.

Kitkontrollbereiche sind angegeben. Die Kontrollwerte dienen zur Bestätigung der Gültigkeit der Kurve und Probenergebnisse. Jedes Labor sollte eigene Parameter für akzeptable Assay-Grenzwerte aufstellen. Wenn die Kontrollwerte NICHT innerhalb der Akzeptanzgrenzen Ihres Labors liegen, sind die Assay-Ergebnisse als fragwürdig zu betrachten und die Proben sollten erneut getestet werden.

## BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Standardkurve für den MicroVue Factor H EIA wird unter Verwendung der  $A_{450}$ -Werte für jeden Standard (auf der y-Achse) nach Abzug der Leerprobenwerte und der zugewiesenen Konzentration für jeden Faktor-H-Standard (auf der x-Achse) erzeugt. Die meisten Softwareprogramme für Plattenleser und Computer können diese Berechnungen durchführen.

Alternativ können die Daten manuell grafisch dargestellt werden. Eine typische Standardkurve ist in Abbildung 1 gezeigt.



### Berechnung der tatsächlichen Faktor-H-Konzentration in Testproben

Die Faktor-H-Konzentration in jeder unverdünnten Testprobe wird ermittelt, indem die Konzentration von Faktor H/ml wie nach der Kit-Standardkurve ermittelt mit der Reziproke des verwendeten Probenverdünnungsfaktors multipliziert wird.

Wenn die  $A_{450}$ -Werte für eine bestimmte Testprobe höher sind als für den höchsten Standard (E), sind die Ergebnisse als "größer als" die Faktor-H-Konzentration des höchsten Standards (E) multipliziert mit dem Verdünnungsfaktor der Probe anzugeben.

### EINSCHRÄNKUNGEN

Der MicroVue Factor H EIA wurde zur Untersuchung von Proben verwendet, die als Serum oder EDTA-Plasma abgenommen wurden.

### LEISTUNG DES TESTS

#### Grenzen

**Nachweisgrenze:** Die Nachweisgrenze (Limit of Detection [LOD]) für den Faktor H EIA beträgt 3,155 ng/ml.

**Untere Quantifizierungsgrenze:** Die untere Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation [LLOQ]) für den Faktor H EIA beträgt 4,64 ng/ml; dies ist die geringste Konzentration auf der Standardkurve, die die CLSI-Kriterien für Richtigkeit und Präzision erfüllte.

**Obere Quantifizierungsgrenze:** Die obere Quantifizierungsgrenze (Upper Limit of Quantitation [ULOQ]) für den Faktor H EIA beträgt 521 ng/ml; dies ist die höchste Konzentration, die die CLSI-Kriterien für Richtigkeit und Präzision erfüllte.



## Störsubstanzen

Die folgenden im Factor H EIA getesteten Substanzen zeigten keine Störung oder Kreuzreaktion mit dem Assay:

Substanz	Konzentration
Bilirubin	0,4 mg/ml
Hämoglobin	5,0 mg/ml
Triglyzeride	30 mg/ml
Albumin	60 mg/ml
Glucose	12 mg/ml
Gammaglobulin	60 mg/ml
BSA	120 mg/ml
Cholesterin	5,0 mg/ml

## Genauigkeit

Die Präzision innerhalb eines Laufs und über verschiedene Läufe hinweg wurde durch die Untersuchung von 18 Wiederholungen von zwei (2) Plasmaproben und zwei (2) Serumproben in 10 verschiedenen Läufen ermittelt.

Probe	Faktor H (µg/ml)	Innerhalb desselben Laufs <sup>1</sup> SK (%)	Zwischen verschiedenen Läufen <sup>2</sup> SK (%)
EDTA humanes Plasma	217	4,1	9,3
	368	4,7	9,4 %
Serum	96	5,2	9,0
	357	4,8	9,7

<sup>1</sup>n = 20 Wiederholungen

<sup>2</sup>n = 10 Läufe

## Linearität

Die Linearität wurde durch fortlaufende Verdünnung von Proben vor dem Test und Vergleich der beobachteten Werte mit den erwarteten Werten ermittelt. Typische Ergebnisse sind wie folgt dargestellt.

Probe	Verdünnungsfaktor	Beobachteter Faktor H (µg/ml)	9420	Rückgewinnung (%)
Plasma	Unverdünnt	243	243	100,0
	1:8	253	280	90,36
	1:4	317	314	101,1
	1:2,37	331	351	94,44
	1:2	384	355	108,3
	1:1,6	390	393	99,24
	1:1,33	402	425	94,59
	1:1,4	452	434	104,1
	Unverdünnt	466	466	100,0
	Serum	Unverdünnt	12	12
1:8		49	56	88,29
1:4		99	104	95,65
1:2,37		148	147	100,6
1:2		195	207	94,20
1:1,6		257	240	107,0
1:1,33		285	299	95,48
1:1,4		354	344	103,0
Unverdünnt		402	402	100,0

## PROBENWERTE

EDTA-Plasma und -Serum von sechshundsechzig (66) Spendern wurde im MicroVue Factor H EIA-Kit getestet. Diese waren normale gepaarte Proben und es wurden für sie keine zusätzlichen klinischen Informationen angegeben. Die Ergebnisse sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

	n	Mittelwert	BEREICH	
			±2 SD	±3 SD
EDTA humanes Plasma	66	313 µg/ml	196 bis 431 µg/ml	138 bis 489 µg/ml
Serum	66	309 µg/ml	175 bis 443 µg/ml	108 bis 510 µg/ml

**Hinweis:** Das Verhalten der Faktor-H-Konzentrationen hinsichtlich Mittelwert und Standardabweichung (SD) für Plasma- oder Serumproben kann von Labor zu Labor unterschiedlich sein. Deshalb wird empfohlen, dass jedes Labor die Werte der mittleren Faktor-H-Konzentration und Standardabweichung für Proben ermittelt.

Es wurden weitere vier (4) klinisch niedrige Proben verwendet, die zuvor mittels radialer Immundiffusion (RID) und anschließend mit dem MicroVue Factor H EIA-Kit getestet wurden. Die Ergebnisse der Untersuchung mit dem MicroVue Factor H EIA-Kit waren mit denen des RID-Tests vergleichbar.

## HILFE

Zum Bestellen oder für technischen Support wenden Sie sich bitte an einen Vertreter von Quidel unter 800 874 1517 (in den USA) oder 858 552 1100 (außerhalb der USA), Montag bis Freitag von 8.00 bis 17.00 Uhr Ostküstenzeit. Bestellungen können auch per Fax unter 740 592 9820 getätigt werden. Unterstützung per E-Mail erhalten Sie unter [customerservice@quidel.com](mailto:customerservice@quidel.com) oder [technicalsupport@quidel.com](mailto:technicalsupport@quidel.com).

Für Services außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihren lokalen Vertragshändler. Zusätzliche Informationen zu Quidel, unseren Produkten und unseren Vertragshändlern finden Sie auf unserer Website unter [quidel.com](http://quidel.com).

## LITERATUR

1. Schreiber, R.D. and Müller-Eberhard, H.J. New developments in the activation of the alternative pathway of complement. In: *Immunoassays: Clinical Laboratory Techniques for the 1980'S*. Alan R. Liss, Inc., New York. 1980: p.411.
2. Gotze, O. and Müller-Eberhard, H.J. The alternative pathway of complement activation. *Adv. Immunol.* 1976;24:1.
3. Fearon, D.T. and Austen, K.F. Current concepts in immunology: the alternative pathway of complement – a system for host resistance to microbial infection. *New Engl. J. Med.* 1980;303: 259
4. Pangburn, M.K. and Müller-Eberhard, H.J. The alternative pathway of complement. *Springer Semin. Immunopathol.* 1984;7:163.
5. Ratnoff, W.E., Fearon, D.T., and Austen, K.F. The role of antibody in the activation of the alternative complement pathway. *Springer Semin. Immunopathol.* 1983;6:361.
6. Male, D., In Focus; Complement 2. Ausgabe 1995; 16-18
7. Ferreira, V., Pangburn, M., Cortes, C., Complement Control Protein Factor H: The Good, The Bad, and the Inadequate. *Mol Immunol.* 2010 August;47(13): 2187-2197
8. Kishore, U., Sim, R., Factor H as a Regulator of the Classical Pathway Activation. *Immunobiology* 2012 Volume 217, Issue 2; 162-168
9. Kopp, A., Hebecker, M., Svobodova, E., Jozsi, M. Factor H: A Complement Regulator in health and Disease, and a Mediator of Cellular Interactions. *Biomolecules.* 2012; 2 46-75
10. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (Ergänzung Nr. 2S):001.

11. Sefton, M.V., et al. Using ELISA to evaluate complement activation by reference biomaterials. *J. Mat. Sci* 1994;5:622-627.

**REF** A040 – MicroVue Factor H EIA

**IVD**



**EC REP**

MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover  
Deutschland



**Quidel Corporation**  
2005 East State Street, Suite 100  
Athens, OH 45701, USA  
[quidel.com](http://quidel.com)

**PIA040001DE00 (01/20)**

**Revisionsänderungen:**

- Es wurde ein Verfahrensschritt (Assay-Verfahren 2.b.) hinzugefügt, der eine Inkubationszeit von fünf (5) Minuten während der Vorwäsche beinhaltet.

## GLOSSAR

---

**REF**

Katalog-Nr.



CE-Konformitätskennzeichnung

---

**EC REP**

Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft

**LOT**

Chargencode

---



Verwenden bis



Hersteller

---



Temperaturbegrenzung



Verwendungszweck

---



Consult E-Beschriftung  
Gebrauchsanweisung beachten

**IVD**

Zur *In-vitro*-Diagnostik

---



Inhalt ist ausreichend für 96 Bestimmungen

**CONT**

Inhalt/Enthält

---

**CONTROL**

Kontrolle

---