



QUIDEL

MicroVue™ Complement

C1C-C1q EIA

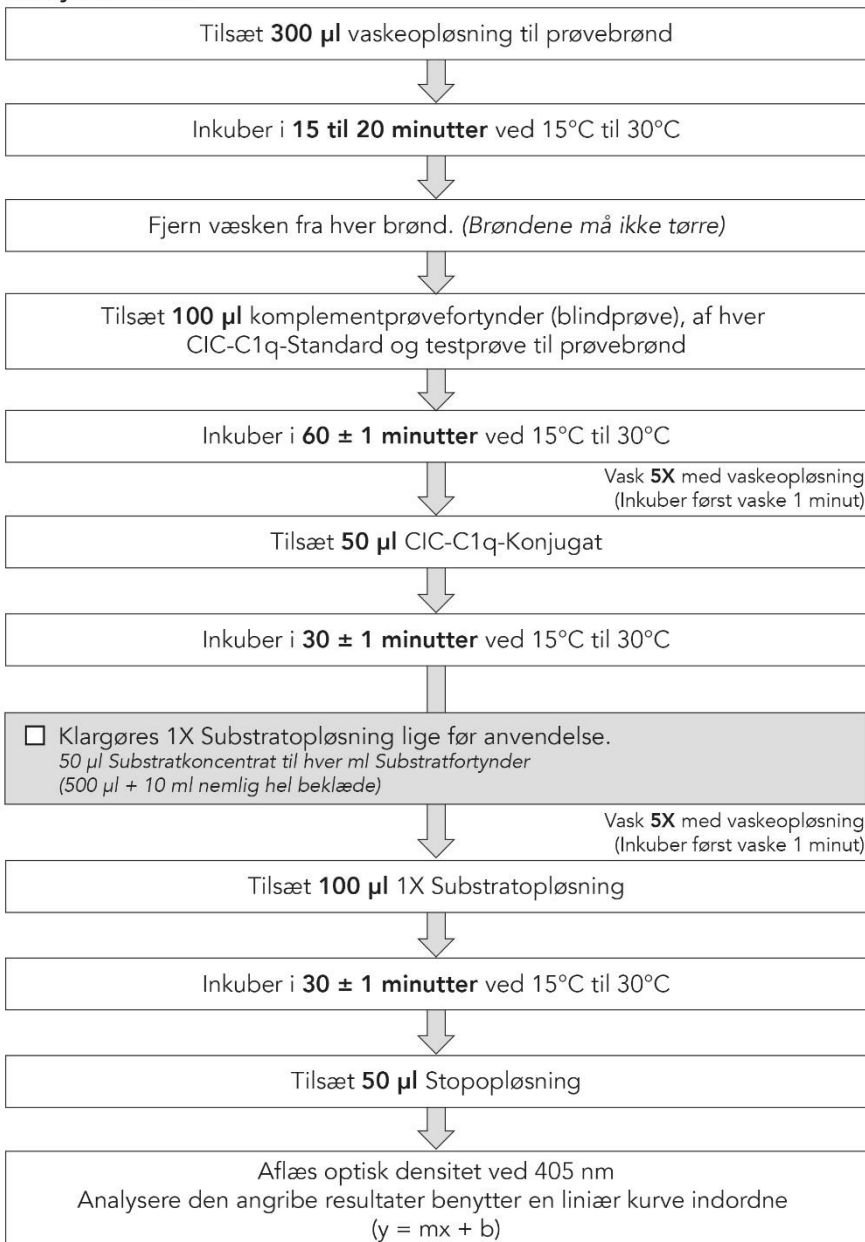
Til påvisning af immunkomplekser i humant serum eller plasma

OPSUMMERING

Klargøring af Reagens og Prøveeksemplar

- Fortynd Vaskeopløsningskoncentrat 1:20 med deioniseret vand.
- Rekonstruere hver Standard med 2,0 ml Hydreringsreagens, blandes fuldstændigt, og inkubere 15 minutter. (Stabile i 30 dage.)
- Fortynd af Prover 1:50 med Komplementprøvefortynder (10 µl + 490 µl).

Assay Procedure





TILSIGTET ANVENDELSE

MicroVue CIC-C1q enzymimmunoassay er designet til detektion af immunkomplekser i humant serum eller plasma.

OPSUMMERING OG FORKLARING

Vigtigheden af de cirkulerende immunkomplekser (CIC) og deres sammenhæng med forskellige sygdomme har været genstand for forskning igennem mange år. Dannelsen af immunkomplekser er en beskyttende, vedvarende og som regel godartet proces i et normalt fungerende immunsystem. CIC fjernes fra kredsløbet i en normal vært ved hjælp af en række komplekse, biokemiske, enzymatiske og cellulære processer. Nøglen til elimineringen af mange CIC-typer er aktivering af den klassiske komplementaktiveringsvej.

Ved særlige sygdomstilstande, hvortil kendskabet stadigvæk er begrænset, kan det imidlertid forekomme, at immunkomplekserne initierer komplement-afhængig beskadigelse af forskellige organer og væv. Denne aktivering af komplementet kan sætte gang i en række potentielt destruktive hændelser i værten, heriblandt produktion af anaphylatoxin, cellelysis, leukocytstimulering og aktivering af makrofager og andre celler.¹ Når immunkomplekserne hæftes til blodkarrenes væg eller til cellemembranerne, kan der forekomme ødelæggelse af normalt væv som i visse tilfælde af glomerulonephritis.

Visse egenskaber ved CIC påvirker deres potentielle patogenicitet. Særlig vigtig er: (1) Antigenets beskaffenhed, størrelse og koncentration, (2) Antistoffets beskaffenhed, størrelse og koncentration, (3) Hastigheden hvormed dannelse og fjernelse af immunkomplekserne foregår.^{1,2}

Cirkulerende immunkomplekser er blevet målt ved en række tilstande: Infektioner, autoimmune forstyrrelser, trauma og neoplastiske proliferative sygdomme. De seneste undersøgelser peger på, at CIC-bestemmelse kan være betydningsfuld ved evalueringen af visse lidelser og sommetider ved måling af en behandlings effektivitet. Dette gælder specielt for systemisk lupus erythematosus (SLE) og nogle former for reumatoid arthritis (RA).^{3,4} Den første sygdomstilstand, der blev forbundet med dannelse af immunkomplekser, var serumsygdom, som blev beskrevet af von Pirquet i starten af 1900-tallet. Siden da er forhøjede CIC-niveauer blevet beskrevet i sammenhæng med autoimmune sygdomme (SLE, SLE-relateret syndrom, RA) glomerulonephritis, neoplastiske sygdomme (Hodgkins, leukæmi) bakterieinfektioner (subakut bakteriel endocarditis, spedalskhed), parasitinfektioner (malaria, schistosomiasis) og virale infektioner (hepatitis, mononukleose).

Der er blevet beskrevet over 40 analyseteknikker til detektion og kvantificering af CIC. De beskrevne testmetoder inkluderer Raji Cell-assay, test for C1q-afvigelse, konglutintest, væskefase-C1q bindingsprocedurer, reumatoidfaktor-analyser, PEG-precipitintest og faststof-C1q-analyser.^{1,5} Da størrelsen og de fysiokemiske egenskaber for CIC varierer markant, er ingen af disse analyser blevet accepteret som en standard. En samarbejdende undersøgelse sponsoreret af World Health Organization fra 1978 påviste, at ingen enkeltstående metode var egnet for samtlige mistænkte sygdomstilstande, og anbefalede at der anvendes mindst to forskellige analyseteknikker for at en tilstrækkelig måling af CIC kan foretages.

PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue CIC-C1q Enzyme Immunoassay er baseret på princippet om at komplement-CIC-fikseringer binder til immobiliseret humant C1q-oprenset protein.

I det første trin tilsættes standarder og serum- eller plasma-prøver, der er fortyndet i komplement-prøvefortynder, til C1q-coatede mikrotiterbrønde og inkuberes. Under denne inkuberingsperiode bliver immunkomplekser, der binder til C1q, kompleksbundet til de C1q-coatede mikrobrønde. For at et positivt CIC-resultat kan bekræftes, kan prøven fortyndes i Bekræftelsesfortynder, som har en høj saltkoncentration, der

er kendt for at hæmme bindingen af CIC til C1q^{6,7}, hvorefter prøven tilsættes mikrotiterbrøndene og inkuberes. De ubundne serum proteiner fjernes i en vaskecyklus.

I det andet trin tilsættes peberrodperoxidase og (HRP)-konjugeret gede-anti-human IgG til hver prøvebrønd. Under denne inkubering vil konjugatet binde til immunkomplekserne, som nu er bundet til de C1q-coatede mikrobrønde. Det ubundne konjugat fjernes i en vaskecyklus.

I det tredje trin tilsættes et enzymsubstrat til hver prøvebrønd. Det bundne HRP-konjugerede antistof reagerer med det kromogene substrat, så der dannes en grøn farve. Efter inkubering tilsættes en reagens for at standse farveudviklingen.

Absorbansen (A_{405} værdierne) for standard og testprøver måles med et spektrofotometer. Intensiteten på den fremkomne grønne farve er proportional med mængden af CIC, der binder til faststof-C1q. Der genereres en standardkurve ved at plote de opnåede A_{405} værdier for hver standard op imod dens egen koncentration. Immunkomplekskoncentrationen i testprøven bestemmes ud fra standardkurven. Resultaterne udtrykkes som varme-aggregerede, humane gammaglobulin-ækvivalenter per ml ($\mu\text{g Eq/ml}$).

LEVEREDE MATERIALER OG REAGENSER

CIC-C1q EIA-kit indeholder følgende:

A	CIC-C1q-standarder	Del A9503-A9505	2 stk, 2 ml
B	(lyophiliseret) Efter rekonstituering indeholder hver en kendt mængde varme-aggregeret humant		
C	gammaglobulin (HAGG) i PBS, 2,5% stabilisatorer		
1	Mikroplade	Del A9500	12 stk.
	96 brønde med holder og stativ bestående af otte-brønds strips coated med oprenset humant C1q-protein i en forsejlet foliepose med genlukning		
2	Stop-opløsning	Del A3673	6 ml
	Indeholder 250 mM oxalsyre		
3	20X Vaskeopløsningskoncentrat	Del A9957	2 stk, 50 ml
	Indeholder hver fosfatbufferjusteret saltvand (PBS), 1,0% Tween-20®, og 0,035% ProClin® 300		
4	Komplement-prøvefortynder	Del A3670	50 ml
	Indeholder PBS, 2,5% stabilisatorer, 0,035% ProClin 300		
5	Substratfortynder	Del A3672	25 ml
	Indeholder 0,1 M citratbuffer og 0,05% H ₂ O ₂		
6	Substratkoncentrat	Del A3671	1,5 ml
	Indeholder 0,7% 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsyre), diammoniumsalt		
7	CIC-C1q-konjugat	Del A9506	2 stk, 3 ml
	Indeholder peroxidase-konjugeret (ged) -anti-humant IgG der er suspenderet i en HRP-stabiliserende buffer		
8	Hydreringsreagens	Del A3675	25 ml
	Indeholder 0,035% Proclin 300		
9	Bekræftelsesfortynder	Del A9511	2 stk, 10 ml
	Indeholder PBS, 2,5% stabilisatorer, 1,2 M NaCl, 0,035% ProClin 300		

Tween-20® er et varemærke tilhørende ICI Americas Inc.

ProClin® er a registreret varemærke tilhørende Rohm and Haas Company.

NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDLEVEREDE MATERIALER

- Timer (60 minutter)
- Regnemaskine eller andet beregningsudstyr til validering af analysen
- Rene, ubrugte mikroplader og/eller testrør og -stativer
- Beholder til fortyndet vaskebuffer
- Vaskeflaske eller andet vaskesystem til immunoanalyse
- Justerbar multikanalpipette (8 eller 12 kanaler) eller repeat-mikropipetter (valgfri)
- Rene pipetter, 1 ml, 5 ml, og 10 ml
- Mikropipetter og pipettespidser
- Pladelæser til optiske densitetslæsninger ved A_{405} mellem 0,0 og 2,0
- Ionbyttet eller destilleret vand

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLE

- Kun til *in-vitro*-diagnostisk brug.
- Prøverne skal behandles som potentielt biologisk risikomateriale. Følg gældende retningslinier for omgang med biologisk risikomateriale ved håndtering af dette kit og alle patientprøver.
- Beholdere og ikke anvendt indhold bortskaffes i overensstemmelse med de nationale, regionale og lokale bestemmelser.
- Brug de leverede reagenser som en integreret enhed inden udløbsdatoen på pakningens etiket.
- Brug egnet beskyttelsestøj, handsker og øjen-/ansigtsværn ved håndtering af dette kit.
- Opbevar analysereagenserne, som anvist.
- Brug ikke coatede strips, hvis posen er punkteret.
- Test hver prøve i to eksemplarer.
- ProClin 300 anvendes som konserveringsmiddel. Tilfældig kontakt med eller indtagelse af buffer indeholdende ProClin, kan medføre irritation af hud, øjne eller mund. Anvend god laboratoriepraksis så risiko for udsættelse nedsættes. Søg læge hvis der opleves symptomer.
- Brug af multikanalpipetter eller repeat-pipetter anbefales for at sikre en rettidig tilsætning af reagenser.
- Tilsæt prøver og standarder præcist for at sikre en nøjagtig prøveudmåling. Foretag omhyggelig afpipettering og kun ved hjælp af kalibreret udstyr.
- Korrekt udtagning og opbevaring af testprøverne er vigtig for at opnå nøjagtige resultater (se *INDSAMLING OG OPBEVARING AF PRØVER*).
- Undgå mikrobiel krydskontaminering af prøver, reagenser eller materialer. Kontaminering kan medføre ukorrekte resultater.
- Mikrobrøndene må ikke anvendes til mere end en test.
- Dekontaminer alle prøver, reagenser og materialer ved at gennemvæde i mindst 30 minutter i en 1:10 opløsning af husholdningsblegemiddel (natriumhypoklorit) eller autoklavere ved 121°C i 30 minutter ved 15 psi.
- Anvendelse af andre inkuberingstider og -temperaturer end dem, der er anført i afsnittet Procedure kan medføre fejlagtige resultater.
- Substratkoncentratet er lysfølsomt. Udgå langvarig udsættelse for skarpt eller direkte lys. Opbevar reagenserne mørkt når de ikke er i brug.
- Mikrobrøndene må ikke tørre når analysen er begyndt.
- Når væskerne tilsættes til eller aspireres fra mikrobrøndene, skal det undgås at skrabe eller berøre brøndenes bund.
- Varme-inaktiverede, hyperlipæmiske eller kontaminerede prøver kan give fejlagtige resultater.
- For at undgå aerosoldannelse under vasken, skal der bruges et instrument til at aspirere vaskeopløsningen ned i en flaske med blegemiddel til husholdningsbrug.
- Denne analyse kan udføres med enhver valideret vaskemetode.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering.
- For yderligere oplysninger om faresymboler, sikkerhed, håndtering og bortskaffelse af komponenterne i dette kit henvises til sikkerhedsdatabladet, der findes på quidel.com.

OPBEVARING

Opbevar det uåbnede kit ved 2°C til 8°C. I åbnet tilstand kan 20X vaskeopløsningskoncentratet og hydreringsreagensen opbevares ved 2°C til 30°C.

Efter valg af reagenser eller materialer til analysen, stilles de reagenser, der ikke skal anvendes omgående, tilbage til deres opbevaringstemperaturer. Reagenser og materialer til analysen skal bringes op på stuetemperatur (15°C til 30°C) inden brug.

INDIKATIONER OM USTABILITET ELLER FORRINGELSE AF REAGENSERNE

Substratkoncentratet kan variere i farve, fra farveløs til lyse- eller mørkegrøn. Dette har ikke betydning for ydeevnen. Dog skal nyforberedt substratopløsning være farveløs eller lysegrøn. En mørkegrøn farve indikerer at substratopløsningen er blevet forringet og skal smides ud, hvorefter en ny opløsning forberedes i rene glasvarer.

Uklarhed eller misfarvning af fortyndet vaskeopløsning indikerer, at der er sket en forringelse af den pågældende reagens. Hvis dette forekommer, skal opløsningen smides ud.

PRØVEUDTAGNING- OG OPBEVARING

Håndtering og bortskaffelse af alle prøver skal foregå i overensstemmelse med gældende retningslinier.

Analysen kræver mindst 10 µL serum eller EDTA-plasma. Alle prøver skal udtages under aseptiske forhold og klargøres i overensstemmelse med standardteknikker for laboratorieanalyser.⁹ Prøverne må ikke varmeinaktiveres. Partikulært materiale skal fjernes fra prøven ved lavhastighedscentrifugering før analysen.

Prøverne kan opbevares ved 2°C til 8°C i op til 7 dage. Hvis prøverne skal opbevares i længere tid, skal de fryses ved -20°C eller lavere i en fryser der ikke er selvafrimende.

KLARGØRING AF REAGENS

Se Tabel 1 for påkrævet mængde af substratopløsning og antal mikrostrips per test. Efter at de nødvendige reagenser og materialer er taget fra, stilles de reagenser der ikke skal anvendes omgående tilbage til deres opbevaringstemperaturer (Se *OPBEVARING*). **Alle reagenser og materialer til analysen skal bringes op på stuetemperatur på (15°C til 30°C) inden brug.**

1. Vaskeopløsning

Bland 20X vaskeopløsningskoncentratet ved at vende flasken på hovedet adskillige gange. Hvis 20X vaskeopløsningskoncentratet er blevet opbevaret ved 2°C til 8°C, kan der være dannet krystaller. Krystallerne opløses ved at opvarme flasken i vandbad ved 37°C til 50°C indtil alle krystallerne er opløst. Bland godt. Vaskeopløsningen til vaskning af mikrobrøndene klargøres ved at fortynde hele indholdet af en flaske med 20X vaskeopløsningskoncentrat med en liter destilleret eller ionbyttet vand. Bland godt. Vaskeopløsningen er stabil i 30 dage når den opbevares i en ren beholder ved 2°C til 8°C. Hvis der opstår uklarhed eller misfarvning, smides reagensen ud.

2. Valg af mikroanalysestrips

Fjern stripholderen fra den samlede plade Bestem hvor mange strips der er nødvendige ved analysen ud fra Tabel 1. Fjern unødvendige strips og læg dem i en opbevaringspose som forsegles og opbevares ved 2°C til 8°C. De strips der skal anvendes i analysen anbringes ved at fæstne stripholderen til mikropladen.

3. CIC-C1q Standardrekonstituering

Tilsæt 2,0 ml hydreringsreagens til standardhætteglas A-C. Lad de frysetørrede standarder rehydrere i mindst 15 minutter, og bland godt. Undgå at der dannes skum eller luftbobler under blandingen. De rekonstituerede standarder er stabile i 30 dage når de opbevares i en ren beholder ved 2°C til 8°C.

4. Fortynding af prøver

Forsigtig: Håndtér alle prøver som værende potentielt infektiøse. Brug ikke varme-inaktiverede eller kontaminerede prøver. Bestem antallet (N) af prøver der skal analyseres. Afmærk testrørene #1 til #N med etiketter, og notér på det medfølgende dataark, hvilke prøver der svarer til de enkelte rør. Klargør en opløsning i forholdet 1-til-50 af hver prøve idet der anvendes komplement-prøvefortynder (f.eks. 10 µL prøve blandet med 490 µL komplement-prøvefortynder). Bland godt, men undgå at der dannes skum eller luftbobler. Fortyndede prøver må ikke genbruges eller opbevares. Hvis den målte immunkompleksskoncentration i prøven er højere end koncentrationen i standard C og der ønskes et mere nøjagtigt slutpunktsresultat, anbefales det at gentage analysen af den pågældende prøve ved fortynding 1:200 (fire gange fortynding af 1:50). **Bemærk:** Prøver hvis målte CIC-koncentration er lavere end standard C, skal ikke fortyndes yderligere og genanalyseres.

5. Tilsætning af fortyndede prøver til mikrobrøndene

De fortyndede prøver, standarder, kontroller og buffere kan tilsættes til brøndene på en af to måder: Se trin 3 under Analyseprocedure. Ved små analysekørsler hvor kun få prøver skal analyseres, kan de fortyndede prøver og andre reagenser tilsættes direkte til de tildelte brønde med en mikropipette (100 µL/brønd). Ved små og store kørsler, men især store kørsler, anbefales det at bruge en multikanalpipette ved tilsætning af prøver som følger. **(Hvis det ønskes, kan denne procedure også anvendes til at lette tilsætningen af konjugat, substrat og stopopløsning.)**

For at standarder, kontroller, og fortyndede prøver kan tilsættes til mikrobrøndene så hurtigt som muligt, kan dette foretages ved en replika-udpladningsteknik. I stedet for at tilsætte 100 µL fra hver standard, kontrol eller fortyndet prøve til de antistof-coatede brønde, kan 120-130 µL fra hver opløsning tilsættes de individuelle brønde på en blindplade (ikke vedlagt), der svarer til det ønskede endelige EIA-mønster. Efter at alle opløsningerne er tilsat mikrobrøndene på blindpladen, skal 100 µL hurtigt overføres fra hver blindprøvebrønd til de C1-q-coatede brønde med en multikanalpipette. For at undgå krydskontaminering skal pipettespidserne skiftes hver gang der overføres prøver med en anden sammensætning.

6. Bekræftelsesfortynder (valgfri)

Hvis der ønskes bekræftelse på et positivt resultat, bestemmes det antal (N) prøver, der skal bekræftes. Afmærk testrørene #1c til #Nc med etiketter, og notér på det medfølgende dataark hvilke prøver der svarer til de enkelte rør. Klargør den passende fortynding (1:50 eller 1:200) idet der anvendes Bekræftelsesfortynder. En prøve der er fortyndet i Bekræftelsesfortynder, skal køres samtidigt med og ved samme fortyndingsforhold, som den prøve der er fortyndet i komplement-prøvefortynder.

7. Klargøring af substratopløsning

Klargøres lige før anvendelse. Bestem den nødvendige mængde substratopløsning ud fra Tabel 1. Klargør substratopløsningen ved at tilsætte 50 µL substratkoncentrat til hver ml substratfortynder. Bland godt.

Tabel 1
Analysekrav

Wells ¹	8-brønds-strips	Påkrævet Substratopløsning (ml)	Substratfortynder (ml)	Substratkoncentrat (µL)
16	2	1,6	2,0	100
24	3	2,4	3,0	150
32	4	3,2	4,0	200
40	5	4,0	5,0	250
48	6	4,8	5,0	250
56	7	5,6	6,0	300
64	8	6,4	7,0	350
72	9	7,2	8,0	400
80	10	8,0	9,0	450
88	11	8,8	9,0	450
96	12	9,6	10,0	500

¹ Bestem antallet af prøver der skal analyseres og læg syv (7) brønde til for de tre standarder (der skal testes i duplikat) samt en blindprøvebrønd. Det anbefales, at standarder og -kontroller analyseres i duplikat i separate mikroanalyse-strips hvis det er muligt.

ANALYSEPROCEDURE

Læs hele indlægssedlen inden analysen startes.

Se *KLARGØRING AF REAGENS*, inden der fortsættes.

Tag godt fat om pladen når denne skal flyttes så det undgås at stripholderen falder ud.

- Notér mikrobrøndenes positioner i forhold til alle prøver og standarder samt lot-nummeret på hætteglasetiketterne. Afmærk et af hjørnerne på mikropladen til orientering.
- Klargør mikrostrips til analysen som følger:
 - Rehydrér mikrobrøndene ved at tilsætte ca. 300 µL vaskeopløsning til hver brønd med en vaskeflaske eller et automatisk instrument til pladevask.
 - Inkubér 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (15°C til 30°C).
 - Fjern væsken fra brøndene.
 - Vend pladen om, og læg den ovenpå trækpapir idet der bankes gentagende gange så tilbagebleven væske fjernes. **Brøndene må ikke tørre.**
- Tilsæt 100 µL komplement-prøvefortynder til de brønde der vil blive brugt som blindprøver i pladelæseren.
- Tilsæt 100 µL af hver af de rekonstituerede CIC-C1q-standarder (A, B og C) til duplikatbrøndene.
- Tilsæt 100 µL af hver fortyndede prøve til dens tildelte mikrobrønd. Se *KLARGØRING AF REAGENS*, Trin 5.
- Inkubér i 60 ± 1 minutter ved stuetemperatur (15°C til 30°C).
- Vask mikrobrøndene som følger:

Bemærk: Proceduren for vask af mikrobrøndene kan enten udføres manuelt eller med en automatisk pladevasker.

 - Efter inkuberingen i trin 6 (og i trin 9 nedenfor), fjernes indholdet fra hver brønd.
 - Tilsæt ca. 300 µL vaskeopløsning til hver brønd med en vaskeflaske eller en automatisk pladevasker.
 - Inkubér brøndene i 1 minut ved stuetemperatur (15°C til 30°C).
 - Fjern indholdet fra hver brønd.
 - Tilsæt ca. 300 µL vaskeopløsning til hver brønd.
 - Fjern indholdet fra hver brønd.
 - Gentag trin e-f yderligere tre gange.**
 - Efter denne femte vaskecyklus vendes pladen om og lægges ovenpå trækpapir idet der bankes to gange så tilbagebleven væske fjernes.

8. Idet der anvendes en multikanal- eller repeat-pipette, dispenseres 50 µL af konjugatet ned i hver vasket prøvebrønd, inkl. i de brønde der er beregnede til blindprøver.
9. Inkubér stripsene i 30 ± 1 minutter ved stuetemperatur (15°C til 30°C). Klargør substratopløsningen under inkuberingen (se *KLARGØRING AF REAGENS*, trin 8).
10. Vask mikrobrøndene efter de 30 minutters inkubering (trin 9), som beskrevet i *ANALYSEPROCEDURE*, trin 7.
11. Straks efter vaskeproceduren dispenseres 100 µL nyforberedt substratopløsning ned i hver brønd, inkl. blindprøvebrøndene.
12. Inkubér mikrostripsene i 30 ± 1 minutter ved stuetemperatur (15°C til 30°C).
13. Tilsæt 50 µL stopopløsning til hver brønd så den enzymatiske reaktion standses. Stopopløsningen skal tilsættes til brøndene i samme rækkefølge og ved samme hastighed som substratopløsningen. Bank let på pladen så farveudviklingen spredes jævnt.
14. Bestem absorbansen ved aflæsning ved 405 nm af hver brønd inden for en time efter tilsætning af stopopløsningen (trin 13) idet der foretages en blindprøvekorrigering i overensstemmelse med det spektrofotometriske system der anvendes.
15. Bortskaf de resterende fortyndede prøver, substrat og brugte mikroanalysestrips (Se *ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER*, punkt 3) Stripstativ og stripholderen gemmes til senere brug.

ANBEFALET METODE TIL BEKRÆFTELSE

Hvis det er nødvendigt med en uafhængig bekræftelse af et positivt resultat, eller hvis et positivt resultat ikke stemmer overens med den kliniske fortolkning, kan prøven genanalyseres ved en bekræftende analyse. Et negativt resultat kan ikke bekræftes. Bekræftelsesmetoden anvender en prøvefortynder (Bekræftelsesfortynder) med et højere indhold af natriumklorid^{6,7} For at bekræfte et positivt resultat skal en aliquot af prøven fortyndes i bekræftelsesfortynder (1:50 eller 1:200) mens en anden aliquot fortyndes tilsvarende i komplement-prøvefortynder. Begge prøver skal derefter analyseres i overensstemmelse med den sædvanlige procedure for MicroVue CIC-C1q-analyse. Se *KLARGØRING AF REAGENS* og *FORTOLKNING AF RESULTATER* for yderligere anvisninger.

KVALITETSKONTROL

I overensstemmelse med god laboratoriepraksis anbefales det, at der inkluderes positive og negative kontroller i hver analyse. Kontroller til MicroVue CIC-C1q analysen kan fås fra Quidel til dette formål, (CIC-C1q Controls, Katalog #A013) og skal anvendes i overensstemmelse med anvisningen i indlægssedlen.

Udover kontroller medfølger *ANBEFALET METODE TIL BEKRÆFTELSE* og *VALIDERING*.

FORTOLKNING AF RESULTATER

Beregninger

Standardkurven genereres ved at bruge de blind-fratrukkede A_{405} -værdier for hver standard (på y-aksen) og den tildelte koncentration for hver standard (langs x-aksen). Standardkurven skal opfylde valideringskravene. De fleste computere og regnemaskiner er i stand til at udføre disse beregninger. Et eksempel på en typisk standardkurve er vist i Figur 1.

Ud fra standardkurven beregnes koncentrationen i hver prøve af µg Eq/ml ved en lineær regressionsanalyse. Beregnede værdier, der fastslås i henhold til standardkurven, skal evalueres i forhold til skæringspunktet for rapportering af positive resultater. Se Fortolkning nedenfor.

Justering af fortyndingsfaktor. Justering af fortyndingsfaktor. Den tildelte CIC-koncentration er blevet bestemt ved at antage en 1:50 fortynding af prøven. Hvis en højere fortyndelse af prøven blev analyseret, skal brugeren blot gange det beregnede resultat med den passende fortyndingsfaktor. For eksempel, hvis den analyserede prøvefortynding var 1:200, skal det beregnede resultat ganges med 4.

Beregning af bekræftende analyse. For at et positivt resultat kan bekræftes, skal den immunkompleksskoncentrationen (CIC), der blev påvist i prøven, der var fortyndet i Bekræftelsesfortynder, divideres med den immunkompleksskoncentration der blev målt i prøven, der var fortyndet i komplementprøvefortynder, så der foreligger et forhold.

$$\text{forhold} = \frac{[\text{CIC}] \text{ i Bekræftelsesfortynder}}{[\text{CIC}] \text{ i komplement-prøvefortynder}}$$

Validering

Bestem hældningen, y-skæringspunkt, korrelationskoefficienten på den udledte best-fit-linie. Værdierne skal ligge inden for de specificerede områder, for at analysen kan kvalificeres.

korrelationskoefficient (r): Større end 0,95
Hældning (m): 0,022 til 0,056
y-skæringspunkt (b): (-)0,108 til (+)0,238

Fortolkning

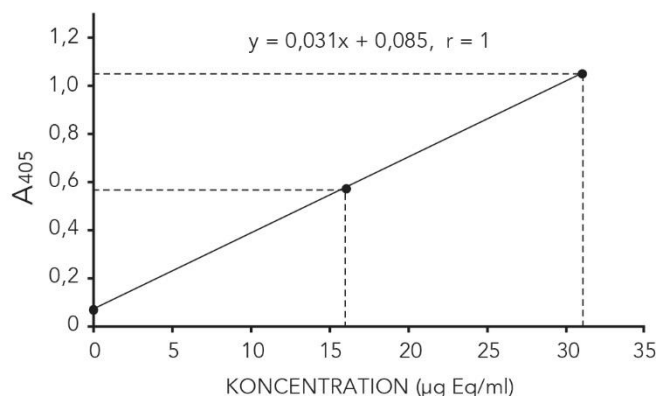
Negative resultater: Værdier der er mindre end 4.0 µg Eq/ml regnes som negative for signifikante CIC-niveauer.

Positive resultater: Værdier der er større end eller lig med 4.0 µg Eq/ml regnes som positive for signifikante CIC-niveauer.

Bekræftelsesresultater: Hvis forholdet er mindre end 0,7, er det positive CIC-resultat bekræftet. En reduktionen på mere end 30%, bekræfter, med andre ord, et positivt resultat.

Fra tid til anden kan det forekomme, at en positiv prøve ikke bliver bekræftet. Ikke-bekræftede prøver forekommer bla. som følge af: (1) fejlhåndterede prøver (f.eks. kontaminerede eller varme-inaktiverede) eller (2) prøver indeholdende egenantistoffer mod C1q. Sådanne prøver er dog ikke nødvendigvis negative for CIC. Det materiale der medfører tilsyneladende falsk-positive resultater, kan dække over samtidigt forekommende CIC som, hvis det var til stede alene, ville give bekræftede positive CIC-resultater.

Figur 1
Eksempel på standardkurve



Prøve	(A ₄₀₅)	µg Eq/ml
Standard A	0,09	0.2
Standard B	0,57	15.6
Standard C	1,05	31.1
Prøve 1	0,19	3.4
Prøve 2	0,82	23.7
Prøve 3	0,40	10.2
r = 1,00	m = 0,031	b = 0,085

PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

1. Varme-inaktivering af prøverne kan medføre falsk-positive resultater. Da denne analyse foregår ved ikke-selektiv måling af ophobning af humant IgG, skal prøveudtagningen foregå på en måde, der forhindrer tilstande, som fremmer IgG-aggregering.
2. MicroVue CIC-C1q enzymimmunoassay har været brugt til analyse af prøver opsamlet som serum eller som plasma i EDTA-antikoagulans. Andre antikoagulanter er ikke blevet testet.

FORVENTEDE VÆRDIER

Cirkulerende immunkomplekser (CIC) blev målt i sera fra 312 individer under anvendelse af MicroVue CIC-C1 enzymimmunoassay. Der blev udtaget ethundredeogseks (106) seraprøver fra normale, asymptomatiske individer. Den gennemsnitlige CIC-koncentration lå på 2,1 µg Eq/ml (S.D. = 1,9).

Der blev analyseret prøver fra 206 patienter med systemisk lupus erythematosus (SLE), reumatoid arthritis (RA) eller andre sygdomme med MicroVue CIC-C1q enzymimmunoassay og andre kommercielt tilgængelige EIA-kits. Der var en generel overensstemmelse mellem de to analyser på 87%.

Inden for den ovennævnte population blev testet enogfirs (81) SLE-patienter og treogtredive (33) RA-patienter. Der var overensstemmelse mellem de to kits ved 82% af prøverne. Resultaterne fremgår af Tabel 2.

Tabel 2
Sammenlignende Data For Specifikke Patientgrupper

MicroVue testresultat	-	+	-	+
Alternativt testresultat	-	+	+	-
RA-patienter	18	9	3	3
SLE-patienter	40	23	15	3
Andet	0	90	2	0

PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA

Nøjagtighed

Til standardisering af analysen blev anvendt en immunkompleksstandard udviklet af WHO hvor der anvendes varmeaggregeret IgG. Med henblik på at teste analysens nøjagtighed blev fem fortyndinger med WHO standard analyseret i tripliket ved ni kørsler med MicroVue-kittet. De analyserede værdier blev bestemt som værende prædiktive for de forventede standardkoncentrationer (koefficient for påvisning = 0,97).

Enogfyrre (41) parvise serum- og plasmaprøver (EDTA-antikoagulans) fra SLE- og RA-patienter blev sammenlignet for at påvise plasmaprøvernes egnethed ved analysen. Der blev ikke observeret nogen signifikant forskel på resultaterne fra serum- og plasmaprøverne ($\alpha = 0,05$).

Reproducerbarhed

Patientprøver og kit-standarder blev testet ved ni analysekørsler med tre forskellige kit-lots. Hver blev testet i tripliket inden for hver analysekørsel. Hver serumprøve blev kørt i en enkelt brønd ved hver kørsel, og den gennemsnitlige variation mellem hver kørsel for prøver og standarder fremgår af Tabel 3 som inter-assay-variation. Den gennemsnitlige variation inden for hver kørsel fremgår af Tabel 3 som intra-assay variation.

Tabel 3
Analysereproducerbarhed

	Gennemsnit (Eq/ml)	Intra-assay S.D. (%CV)	Inter-assay S.D. (%CV)
Prøve 1	30	IT	3.1 (10)
Prøve 2	7	IT	2.6 (37)
Prøve 3	0	IT	0.3 (IA)
Standard 1	37	3.2 (9)	3.9 (11)
Standard 2	20	2.1 (10)	1.8 (9)
Standard 3	0	0.1 (IA)	0.0 (IA)

IT = ikke testet IA = ikke anvendelig

Sensitivitet

Analytsensitiviteten for MicroVue CIC-C1q enzymimmunoassay er 1,0 µg Eq/ml.

Specifitet

Der blev analyseret ethundredeogseks (106) serum- og plasmaprøver fra normale, asymptomatiske individer. Den samlede specificitet for analysen lå på 94%.

ASSISTANCE

For serviceydelser uden for USA kontaktes den lokale distributør. Yderligere information om Quidel, vores produkter og vore distributører kan findes på www.quidel.com.

REFERENCER

1. McDougal, J.S., McDuffie, F.C., Immune Complexes in Man: Detection and Clinical Significance, *Advances in Clinical Chemistry*, Vol. 24, p. 1, 1985.
2. Endo, L., Corman, L.C., Panush, R.S., Clinical Utility of Assays for Circulating Immune Complexes, *Medical Clinics of North America*, Vol. 69, No. 4, p. 623, July 1985.
3. Abrass, C.K., Nies, K.M., Louie, J.S., Border, W.A., Glasscock, R.J., Correlation and Predictive Accuracy of Circulating Immune Complexes with Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus, *Arthritis Rheum.*, Vol. 23, p. 273, 1980.
4. Duquesnoy, B., Circulating Immune Complexes and Complement in Rheumatoid Arthritis, *Ann. Biol. Clin.*, Vol. 42, p. 71, 1984.
5. Theofilopoulos, A.N., The Raji, Conglutinin, and Anti-C3 Assays for the Detection of Complement-Fixing Immune Complexes, *Methods in Enzymology*, Vol. 74, p. 511, 1981.
6. Agnello, V., Winchester, R.J., Kunkel, H.G., Precipitin Reactions of the C1q Component of Complement with Aggregated Gamma-Globulin and Immune Complexes in Gel Diffusion, *Immunology*, Vol. 19, p. 909, 1970.
7. Hack, C.E., Huijbregts, C.C., Paardekooper, J., Influence of Ionic Strength, EDTA Concentration, Endogenous C1q and Polyanions on the ¹²⁵I-C1q-Binding Test, *J. Immunol. Meth.*, Vol. 72, p. 197, 1984.
8. Richardson, J.H., Barkley, W.E., *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, p. 11–13, 1984.

9. Davidson, I., et al., *The Blood*, p. 1 20. in Cl. Davidson and J.B. Henry (ed.), Todd-Sanford Clinical Diagnosis, W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania, 1969.

MicroVue er et varemærke tilhørende Quidel Corporation. Ethvert andet varemærke indeholdt i dette dokument tilhører den respektive ejer, og dets anvendelse heri indebærer ikke sponsoring eller godkendelse af produkter eller tjenester.

REF A001 – MicroVue CIC-C1q Eq 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

PIA001004DA00 (09/21)

ORDLISTE

REF

Katalognummer



CE-mærket for overensstemmelse

EC REP

Autoriseret repræsentant i det Europæiske

LOT

Batch-code



Anvendes inden



Producent



Temperaturbegrænsning



Tilsigtet anvendelse



Konsultere brugsanvisningen e-mærkning af



Biologisk fare

IVD

Til *in vitro* diagnostisk anvendelse



Indeholder nok til 96 bestemmelser

CONT

Inghold/Indeholder

CONTROL

Prøve
