

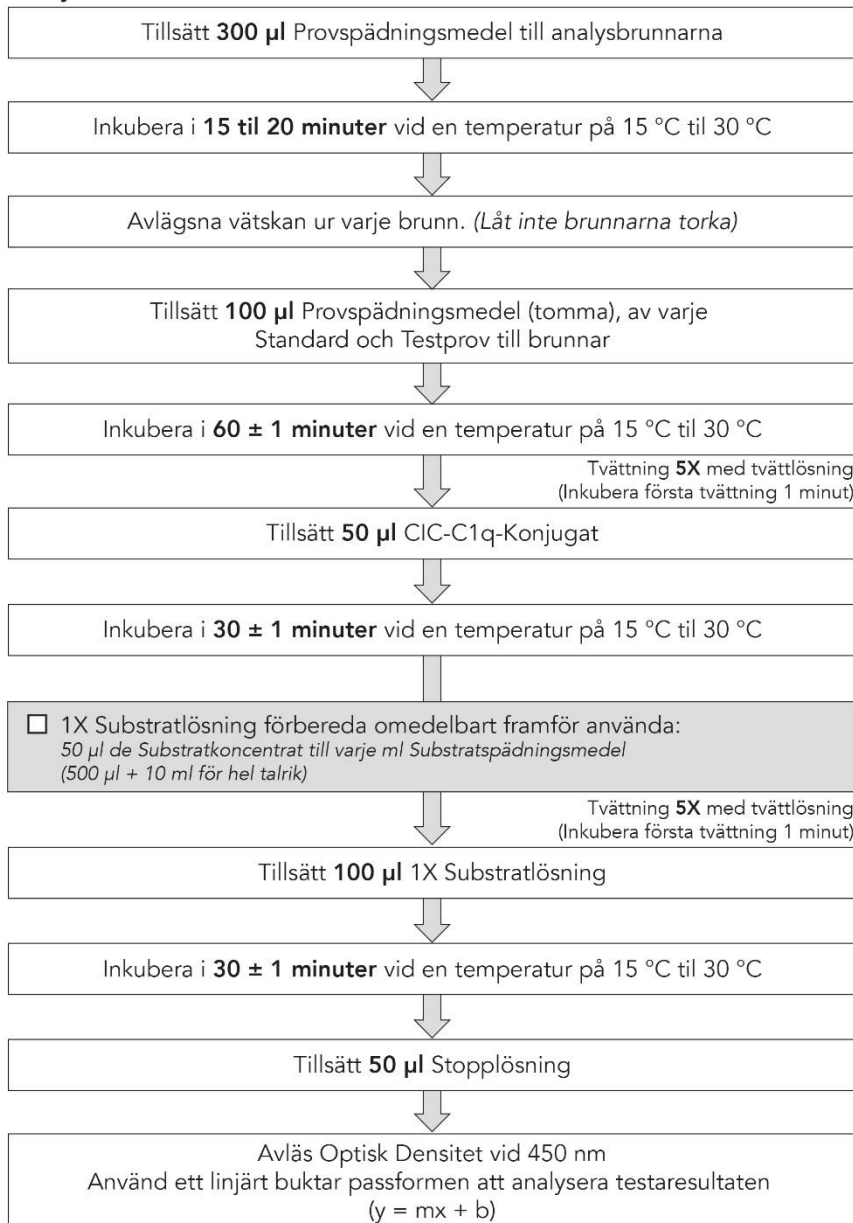
För detektion av immunkomplex i humant serum eller plasma

SAMMANDRAG

Reagent och Prov Förberedelse

- Späd tvättlösningsskoncentrat 1:20 med avjoniserat vatten.
- Rekonstruera var Standard med 2,0 ml Hydreringsreagens, blanda absolut, och äggkläckningsmaskin för 15 minuterna. (*Stabila i 30 dagar*)
- Späd prover 1:50 med Komplementprovspädningsmedel (10 µl + 490 µl).

Analysförfarande





AVSEDD ANVÄNDNING

MicroVues enzymimmunoanalys CIC-C1q är avsedd för detektering av immunkomplex i humant serum eller plasma.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Betydelsen av cirkulerande immunkomplex (CIC), och deras samband med olika sjukdomar, har undersökts under många år. Bildning av immunkomplex utgör en skyddande, fortlöpande och normalt godartad process i ett normalt fungerande immunsystem. CIC avlägsnas från cirkulationen i en normal värd genom ett antal komplexa biokemiska, enzymatiska och cellulära processer. Nyckeln till elimineringen av många CIC ligger i aktiveringen av den klassiska komplementbanan.

Under vissa sjukdomstillstånd, som man fortfarande vet mycket lite om, kan immunkomplex emellertid initiera komplementberoende skador på olika organ och vävnader. Denna komplementaktivering kan inleda en serie potentiellt destruktiva händelser i värden, inklusive anafylatoxinproduktion, celllys, leukocytstimulering och aktivering av makrofager och andra celler.¹ När immunkomplex fäster vid kärlväggar eller cellmembran kan normal vävnad förstöras, exempelvis i vissa fall av glomerulonefrit.

Vissa egenskaper hos CIC inverkar på den potentiella patogeniciteten. Speciellt viktigt är följande: (1) antigenens art, storlek och koncentration, (2) antikroppens art, storlek och koncentration och (3) immunkomplexens bildningshastighet och eliminering.^{1,2}

Cirkulerande immunkomplex har konstaterats vid många olika tillstånd: infektioner, autoimmunstörningar, trauma och neoplastiska proliferativa sjukdomar. Enligt aktuella studier kan CIC-bestämning vara viktig för utvärderingen av vissa sjukdomar samt, ibland, vid övervakning av behandlingseffektivitet. Detta gäller i synnerhet för systemisk lupus erytematös (SLE) och vissa former av reumatoid artrit (RA).^{3,4} Historiskt sett utgjordes det första sjukdomstillståndet som kopplades till bildning av immunkomplex av serumsjuka, som beskrevs av von Pirquet i början av 1900-talet. Sedan dess har förhöjda CIC-halter beskrivits för autoimmunsjukdomar (SLE, SLE-relaterat syndrom, RA), glomerulonefrit, neoplastisk sjukdom (Hodgkins, leukemi), bakterieinfektioner (subakut bakteriell endokardit [SBE], lepra), parasitinfektioner (malaria, schistosomias) och virusinfektioner (hepatit, mononukleos).

Mer än 40 analysmetoder för detektering och kvantitering av CIC har beskrivits. Sådana tester som Rajicellanalys, C1q-avvikelsestest, konglutinantest, vätskefas-C1q-bindningsförfaranden, reumatoid faktoranalys, PEG-precipitintest, och fastfas-C1q-analyser är beskrivna.^{1,5} Eftersom storleken på och de fysiokemiska egenskaperna för CIC varierar i hög grad, har ingen av dessa analyser accepterats som en standard. En gemensam studie sponsrad av världshälsoorganisationen WHO kom år 1978 fram till att ingen av metoderna lämpade sig för samtliga sjukdomstillstånd, och rekommenderade att minst två olika analysmetoder skulle tillämpas för detektering och mätning av CIC på ett adekvat sätt.

FÖRFARANDETS PRINCIP

MicroVues enzymimmunoanalys CIC-C1q bygger på principen att komplement-CIC-fästen binder till immobiliserat humant C1q-renat protein.

I det första skedet tillsätter man standarder och serum- eller plasmaprover som späts med komplementprovspädningsmedel till de C1q-belagda mikrotitrerbrunnarna och inkuberar. Under denna inkubationsperiod bildar immunkomplex som binder till C1q komplex med de C1q-belagda mikroanalysbrunnarna. För att bekräfta ett positivt CIC-resultat kan man späda provet i bekräftelsespädningsmedel, som innehåller en hög saltkoncentration som man vet inhiberar CIC-bindningen till C1q,^{6,7} och sedan tillsätta till mikrotitrerbrunnarna och inkubera. En tvättcykel avlägsnar obundna serumproteiner.

Under det andra skedet tillsätter man pepparrotsperoxidaskonjugerat (HRP) get-anti-humant IgG till varje testbrunn. Under denna inkubation binder konjugatet till de immunkomplex som nu är bundna till de C1q-belagda mikroanalysbrunnarna. En tvättcykel avlägsnar obundet konjugat.

Under det tredje skedet tillsätter man ett enzymsubstrat till varje testbrunn. De bundna, HRP-konjugerade antikropparna reagerar med det kromatogena substratet så att en grön färg bildas. Efter inkubation tillsätter man en reagens för att stoppa färgutvecklingen.

Standardens och testprovets absorbanser (A405-värden) mäts spektrofotometriskt. Intensiteten på den gröna färgen är proportionell mot den mängd CIC IgG-antikroppar som binder till fastfas-C1q:et. En standardkurva erhålls genom plottning av de A405-värden som erhålls för varje standard relativt dess koncentration. Koncentrationen immunkomplex i testprovet bestäms med hjälp av standardkurvan. Resultaten uttrycks i formaggregerade humana gammaglobulinekvivalenter per ml ($\mu\text{g Eq/ml}$).

REAGENSER OCH MATERIAL SOM INGÅR

EIA-kit CIC-C1q innehåller följande:

A	CIC-C1q-standarder	Art. A9503-A9505	2 av vardera, 2 ml
B	(lyofiliserade) Efter rekonstituering innehåller var och en en känd kvantitet värmeaggregerat humant		
C	gammaglobulin (HAGG), i PBS, 2,5 % stabiliserare		
1	Mikroanalysplatta	Art. A9500	12 av vardera
	96-brunnars med fäste och hållare, bestående av remsor med åtta brunnar, med renat humant C1q-protein, i en återförslutbar foliepåse		
2	Stopplösning	Art. A3673	6 ml
	Innehåller 250 mM oxalsyra		
3	20 X-tvättlösningsskoncentrat	Art. A9957	2 av vardera, 50 ml
	Innehåller var och en fosfatbuffrad saltlösning (phosphate buffered saline – PBS), 1,0 % Tween-20 [®] samt 0,035 % ProClin [®] 300		
4	Komplementprovspädningsmedel	Art. A3670	50 ml
	Innehåller PBS, 2,5 % stabiliserare, 0,035 % ProClin 300		
5	Substratspädningsmedel	Art. A3672	25 ml
	Innehåller 0,1 M citratbuffert och 0,05 % H ₂ O ₂		
6	Substratkoncentrat	Art. A3671	1,5 ml
	Innehåller 0,7 % 2,2'-azino-bis(3-etylbenziazolin-6-svavelsyra), diammoniumsalt		
7	CIC-C1q-konjugat	Art. A9506	2 av vardera, 3 ml
	Peroxidaskonjugerat (get)anti-humant IgG löst i HRP-stabiliseringsbuffert		
8	Hydreringsreagens	Art. A3675	25 ml
	Innehåller 0,035 % ProClin 300		
9	Bekräftelsespädningsmedel	Art. A9511	2 av vardera, 10 ml
	Innehåller PBS, 2,5 % stabiliserare, 1,2 M NaCl, 0,035 % ProClin 300		

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 immunoanalystavvättsystem
- 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 en optisk A_{405} -densitet på mellan 0,0 och 2,0
- Avjoniserat eller destillerat vatten

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSANVISNINGAR

- För *in vitro*-diagnostik.
- Behandla alla prover som biologiskt riskmaterial. Hantera satsens innehåll och patientprover med försiktighet.
- Kassera behållare och använt innehåll enligt gällande nationella och lokala bestämmelser.
- Medföljande reagenser används som en enhet fram till det utgångsdatum som anges på förpackningen.
- Använd lämpliga skyddskläder, -handskar och -glasögon/ansiktsskydd vid hantering av kitets innehåll.
- Förvara analysreagenser enligt anvisningen.
- Använd inte remsor med beläggning om det finns hål på förpackningen.
- Dubbeltesta varje prov.
- 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.
- Användning av multikanal- eller repeterpipetter rekommenderas vid uppmätning av reagenser.
- För korrekt provmätning ska exakta mängder prover och standarder tillsättas. Pipettera omsorgsfullt med kalibrerad utrustning.
- Korrekt provtagning och förvaring av testprover är av avgörande betydelse för korrekta resultat (se *PROVTAGNING OCH PROVFÖRVARING*).
- Undvik mikrobiell kontaminering eller korskontaminering av prover, reagenser eller material. Kontaminering kan leda till felaktiga resultat.
- 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.
- Substratkoncentratet är ljuskänsligt. Undvik långvarig exponering för starkt eller direkt ljus. Förvara reagenserna mörkt när de inte används.
- Låt inte mikroanalysbrunnarna torka när analysen har påbörjats.
- Undvik att skrapa eller beröra brunnarnas väggar vid tillsats av vätskor till eller aspirering av vätskor från mikroanalysbrunnarna.
- Värmeinaktiverade, hyperlipemiska eller kontaminerade prover kan leda till felaktiga resultat.
- Undvik aerosolbildning vid tvätt genom att använda en apparat som aspirerar tvättvätskan till en flaska med ett kommersiellt blekmedel.
- Analysen utförs med en validerad tvättmetod.
- 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. När kitet har öppnats kan 20 X-tvättlösningsskoncentratet och hydreringsreagensen förvaras vid en temperatur på 2 °C till 30 °C.

Efter val av de reagenser eller material som ska användas för analysen ska de oanvända reagenserna omedelbart åter placeras i sina tillämpliga förvaringstemperaturer. Låt reagenser och material få rumstemperatur (15 °C til 30 °C) före användning.

INDIKATIONER PÅ INSTABILITET HOS ELLER FÖRSÄMRING AV REAGENSER

Substratkoncentratets färg kan variera mellan färglöst och ljus- eller mörkgrönt. Färgen inverkar inte på dess prestanda. Den nyberedda substratlösningens färg ska emellertid vara färglös till ljusgrön. En mörkgrön färg indikerar att substratlösningen har försämrats och måste kasseras, och att ny substratlösning ska beredas i rent glasmaterial.

Grumlighet hos eller missfärgning av den utspädda tvättlösningen indikerar försämring av denna reagens. När så är fallet ska lösningen kasseras.

PROVTAGNING OCH FÖRVARING

Hantera och kassera alla prover med försiktighet.

För analysen krävs minst 10 µL serum eller EDTA-plasma. Alla prover ska tas aseptiskt och beredas med standardmetoder för klinisk laboratorietestning.⁹ Värmeinaktivera inte proven. Avlägsna eventuella partiklar från proven genom centrifugering med lågt varvtal före testning.

Proven kan sparas vid en temperatur på 2 °C til 8 °C i upp till 7 dagar. Om proven ska förvaras under längre tid ska de frysas vid en temperatur på –20 °C eller under, i en frys som inte är självavfrostande.

FÖRBEREDANDE AV REAGENS

Se tabell 1 för information om substratlösningmängder och hur många remsor som behövs för olika antal tester. När de reagenser och det material som behövs tagits till vara ska oanvända reagenser och oanvänt material återföras till sina respektive förvaringstemperaturer (se *FÖRVARING*). **Låt reagenser och material för analysen få rumstemperatur (15 °C til 30 °C) före användning.**

1. Tvättlösning

Blanda 20 X-tvättlösningkoncentratet genom att vända flaskan uppochned flera gånger. Om 20 X-tvättlösningkoncentratet har förvarats vid en temperatur på 2 °C til 8 °C kan kristaller ha bildats. För att lösa upp kristallerna värmer man flaskan i ett vattenbad på 37 °C til 50 °C tills alla är upplösta. Blanda omsorgsfullt. Bered tvättlösningen för tvättning av mikroanalysbrunnarna genom att späda ut hela innehållet i en av flaskorna med 20 X-tvättlösningkoncentrat 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 til 8 °C. Vid missfärgning eller grumling ska reagensen kasseras.

2. Välja mikroanalysremsor

Ta bort remsfästet från den monterade plattan. Bestäm hur många remsor som behövs för analysen med hjälp av tabell 1. Placera de remsor som inte behövs i förvaringspåsen, återförslut påsen och förvara den vid en temperatur på 2 °C til 8 °C. Säkra de remsor som ska användas för analysen genom att sätta tillbaka remsfästet på mikroanalysplattan på ett säkert sätt.

3. Rekonstituering av CIC-C1q-standard

Tillsätt 2,0 ml hydreringsreagens till standardvialerna A-C. Låt de hydrofiliserade standarderna rehydrera i minst 15 minuter, följt av omsorgsfull blandning. Undvik skum- eller bubbelbildning under omrörningen. Rekonstituerade standarder är stabila i 30 dagar vid förvaring vid en temperatur på 2 °C til 8 °C.

4. Provspädning

Försiktighet: Behandla alla prov som potentiellt infektiösa. Använd inte värmeinaktiverade eller kontaminerade prover. Beräkna hur många (N) prover som ska testas. Märk provrören med nr. 1 till och med nr. N, och registrera vilka prov som motsvarar vilka provrör på det medföljande databladet. Bered en spädning i förhållandet 1-till-50 av varje prov med komplementprovspädningsmedel (dvs. 10 µL testprov blandat med 490 µL komplementprovspädningsmedel). Blanda omsorgsfullt men undvik skum- och bubbelbildning. Förvara eller återanvänd inte spädda prover. Om den uppmätta koncentrationen för immunkomplexen i ett prov är högre än koncentrationen för standard C, och ett noggrannare slutpunktsresultat önskas, rekommenderar vi att testningen av provet upprepas vid en spädningsgrad på 1:200 (fyrfaldig spädning av 1:50-spädningen). **OBS:** Prov med uppmätta CIC-koncentrationer på mindre än dem för standard C ska inte spädas ytterligare och sedan testas om.

5. Tillsätta utspädda prover till mikroanalysbrunnarna

Endera av två metoder kan användas vid tillsättning av de utspädda proverna, standarderna, kontrollerna och bufferten till brunnarna. Se steg 3 i avsnittet 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 det andra 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 C1q-belagda brunnarna individuellt kan 120-130 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 är tillsatta till mikroanalysbrunnarna i den tomma plattan öveför man sedan snabbt 100 µL från varje brunn till de C1q-belagda brunnarna med en multikanalmikropipett. För att eliminera risken för korskontaminering måste pipettspetsarna bytas varje gång sammansättningen på de prover som ska överföras ändras.

6. Bekräftelsespädningsmedel (valfritt)

Om man vill ha bekräftelser beräknas hur många (N) prover som ska bekräftas. Märk provrören med nr. 1c till och med nr. Nc, och registrera vilka prov som motsvarar vilka provrör på det medföljande databladet. Bered tillämplig spädning (1:50 eller 1:200) med hjälp av bekräftelsespädningsmedlet. Ett prov som späts med bekräftelsespädningsmedel måste köras samtidigt med samma utspädning av provet i komplementprovutspädningsmedel.

7. Beredning av substratlösning

Bered alldeles före användning. Bestäm erforderlig volym substratlösning med hjälp av tabell 1. Bered substratlösningen genom att tillsätta 50 µL substratkonzentrat till varje ml substratspädningsmedel. Blanda omsorgsfullt.

Tabell 1
Analysbehov

Brunnar ¹	Remsor med åtta brunnar	Mängd substratlösning som behövs	Substrat-spädningslösning (ml)	Substrat-koncentrat (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 Beräkna hur många prover som ska testas och lägg till sju (7) brunnar för de tre standarderna (som ska testas i duplikat), samt en tom brunn. Vi rekommenderar att duplikatstandarderna och -kontrollerna testas på separata mikroanalysremсор om så är möjligt.

ANALYSFÖRFARANDE

Läs hela produktbladet innan analysen påbörjas.

Läs *REAGENSBEREDNING* innan du fortsätter.

Håll fast plattan ordentligt vid all hantering för att förebygga oavsiktlig borttagning av remsfästet.

1. Registrera brunnpositionerna för samtliga testprover och standarder, samt de indikerade satsnumren från viaetiketterna. 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 tvättflaska eller automatiserad plattvättanordning.
 - b. Inkubera i 15-20 minuter vid rumstemperatur (15 °C til 30 °C).
 - c. Avlägsna vätskan ur brunnarna.
 - d. Vänd plattan uppochned och knacka kraftigt över det absorberande papperet två gånger för att avlägsna eventuell kvarvarande vätska. **Låt inte brunnarna torka.**
3. Tillsätt 100 µL komplementprovspädningsmedel till den eller de duplikatbrunnar som ska användas för blankning av plattläsaren.
4. Tillsätt 100 µL av varje rekonstituerad CIC-C1q-standard (A, B, C) till duplikatbrunnarna.
5. Tillsätt 100 µL av varje utspätt prov till dess tillägnade mikroanalysbrunn. Se *REAGENSBEREDNING*, steg 5.
6. Inkubera i 60 ± 1 minut vid rumstemperatur (15 °C til 30 °C).
7. Tvätta mikroanalysbrunnarna så här:

OBS: Mikroanalysbrunnarna kan tvättas antingen manuellt eller med en automatiserad plattvättare.

 - a. Avlägsna innehållet ur varje brunn efter inkubationen i steg 6 (och i steg 9 nedan).
 - b. Tillsätt ungefär 300 µL tvättlösning till varje brunn med hjälp av en tvättflaska eller en automatiserad plattvättanordning.
 - c. Inkubera brunnarna i 1 minut vid rumstemperatur (15 °C til 30 °C).
 - d. Avlägsna innehållet ur varje brunn.
 - e. Tillsätt ungefär 300 µL tvättlösning till varje brunn.
 - f. Avlägsna innehållet 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.
8. Dispensera med hjälp av en multikanalpipett eller repeterande pipett 50 µL konjugat i varje tvättad testbrunn, inklusive blankbrunnen/brunnarna.

9. Inkubera mikroanalysremsorna i 30 ± 1 minuter vid rumstemperatur (15 °C til 30 °C). Bered substratlösningen under denna inkubation (se *REAGENSBEREDNING* steg 8).
10. Tvätta mikroanalysbrunnarna efter den 30 minuter långa inkubationen (steg 9), enligt anvisningarna i avsnittet *ANALYSFÖRFARANDE*, steg 7.
11. Dispensera direkt efter tvättförfarandet $100\ \mu\text{L}$ av den nyberedda substratlösningen i varje brunn, inklusive blankningsbrunnarna.
12. Inkubera mikroanalysremsorna i 30 ± 1 minut vid rumstemperatur (15 °C til 30 °C).
13. Tillsätt $50\ \mu\text{L}$ stopplösning till varje brunn för att stoppa den enzymatiska reaktionen. Stopplösningen ska tillsättas till brunnarna i samma ordningsföljd och med samma tempo som användes vid tillsättningen av substratlösningen. Knacka lätt på plattan för att sprida färgen.
14. Läs av absorbanzen vid 405 nm för varje testbrunn inom en timme från tillsatsen av stopplösningen (steg 13), och utför en blankkorrigering beroende på det spektrometrisystem som används.
15. Kassera återstående utspädda prover, substrat och de begagnade mikroanalysremsorna (se *VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER*, steg 3). Behåll remshållaren och remsfästet för framtida bruk.

REKOMMENDERAD BEKRÄFTELSEMETOD

Om separat bekräftelse av ett positivt resultat krävs, eller om ett positivt resultat inte överensstämmer med den kliniska tolkningen, kan det positiva provet analyseras med ett bekräftelsetest. Ett negativt resultat kan inte bekräftas. Bekräftelsemetoden använder ett provspädningsmedel (bekräftelsespädningsmedlet), som innehåller en hög koncentration natriumklorid.^{6,7} För bekräftelse av ett positivt resultat måste en aliquot av provet spädas (i förhållandet 1:50 eller 1:200) i bekräftelsespädningsmedlet, och en andra aliquot spädas på motsvarande sätt i komplementprovspädningsmedlet. Bägge proven analyseras sedan med den vanliga CIC-C1q-analysmetoden.

Se *REAGENSBEREDNING* och *TOLKNING AV RESULTATEN* för ytterligare information.

KVALITETSKONTROLL

God laboratoriepraxis rekommenderar att man tar med de positiva och negativa kontrollerna i varje analys. Kontroller för MicroVues CIC-C1q-analys finns tillgängliga från Quidel för detta, (CIC-C1q-kontroller, katalognr. A013), och ska användas i enlighet med förpackningsbilagan.

Utöver kontrollerna så innefattar denna analys även en *REKOMMENDERAD BEKRÄFTELSEMETOD* och *VALIDERING*.

TOLKNING AV RESULTATEN

Beräkningar

Standardkurvan genereras med användning av de blanksubtraherade A_{405} -värdena för varje standard (på y-axeln) och den tilldelade koncentrationen för varje standard (längs x-axeln). Standardkurvan måste uppfylla valideringskraven. De flesta datorer och räknare går att använda för denna beräkning. Ett exempel på en typisk standardkurva återges i figur 1.

$\mu\text{g Eq/ml}$ -koncentrationen för varje prov beräknas utifrån standardkurvan med hjälp av linjär regressionsanalys. Beräknade värden bestämda mot standardkurvan bör utvärderas mot brytpunkten för positiv rapportering. Se tolkning nedan.

Justering av spädningsfaktor. Den tilldelade CIC-koncentrationen har fastställts utifrån en spädning av provet på 1:50. Om en högre spädning av provet har analyserats måste användaren multiplicera det beräknade resultatet med den lämpliga spädningsfaktorn. Exempel: Om den analyserade provspädningen var 1:200 måste det beräknade resultatet multipliceras med 4.

Beräkning för bekräftelsetest. För att bekräfta ett positivt resultat dividerar man den immunkomplexkoncentration [CIC] som fastställts för ett prov spätt i bekräftelsepådningsmedel med den immunkomplexkoncentration som uppmätts i ett prov spätt i komplementprovspädningsmedel, för att få fram ett förhållande:

$$\text{förhållande} = \frac{[\text{CIC}] \text{ i bekräftelsepådningsmedlet}}{[\text{CIC}] \text{ i komplementprovspädningsmedlet}}$$

Validering

Bestäm lutningen, avskärningen och korrelationskoefficienten för den härledda linjen som passar in bäst. Värdena måste hamna inom följande intervall för att kvalificera analysen:

korrelationskoefficient (r): Över 0,95
lutning (m): 0,022 till 0,056
y-avskärning (b): (-)0,108 till (+)0,238

Tolkning

Negativa resultat: Värden på under 4.0 µg Eq/ml betraktas som negativa för betydande halter CIC.

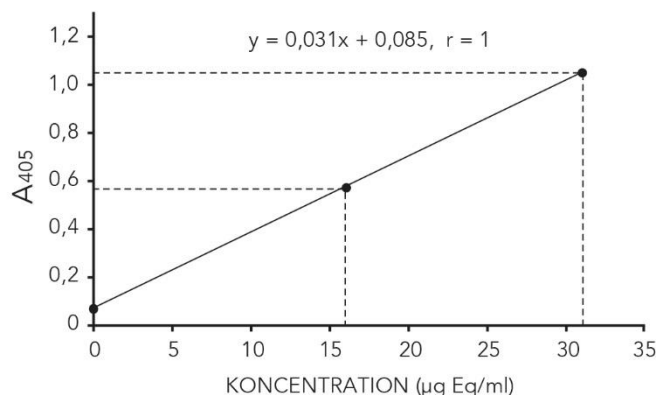
Positiva resultat: Värden på över eller lika med 4.0 µg Eq/ml betraktas som positiva för betydande halter CIC.

Bekräftelseresultat: Om förhållandet är lägre än 0,7 bekräftas det positiva CIC-resultatet. En reduktion på mer än 30 % bekräftar med andra ord ett positivt resultat.

Ibland bekräftas inte positiva prover. Att prover inte bekräftas kan bland annat bero på följande:

(1) felhanterade prover (exempelvis kontaminerade eller värmeinaktiverade, eller (2) prover som innehåller autoantikroppar för C1q. Sådana prover är inte nödvändigtvis negativa för CIC. Det material som vållar det synbarligen falskt positiva resultatet kan maskera samtidigt förekommande CIC som, om de förelåg separat, annars skulle ha givit upphov till ett bekräftelsebart positivt CIC-resultat.

Figur 1
Exempel på standardkurva



Prov	(A ₄₀₅)	µg Eq/ml
Standard A	0,09	0.2
Standard B	0,57	15.66
Standard C	1,05	31.1
Prov 1	0,19	3.4
Prov 2	0,82	23.7
Prov 3	0,40	10.2
r = 1,00	m = 0,031	b = 0,085

PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

1. Värmeinaktivering av prover kan leda till falskt positiva resultat. Eftersom detta test mäter aggregat av humant IgG måste icke-selektiv provtagning och provbehandling undvika tillstånd som främjar IgG-aggregation.
2. MicroVues enzymimmunoanalys för CIC-C1q har använts för att testa prover som tagits som serum eller som plasma i EDTA-antikoagulant. Andra antikoagulanter har inte testats.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Cirkulerande immunkomplex (CIC) mättes i sera från 312 med MicroVues enzymimmunoanalys för CIC-C1q. Etthundrasex (106) sera togs från normala, asymptomatiska subjekt. Den genomsnittliga CIC-koncentrationen var 2,1 µg Eq/ml (S.D. = 1,9).

Prov från 206 patienter med systemisk lupus erytematos (SLE), reumatoid artrit (RA) eller andra åkommor testades med MicroVues enzymimmunoanalys för CIC-C1q och en annan kommersiellt tillgänglig EIA-kit. Den allmänna överensstämmelsen mellan de två testmetoderna var 87 %.

Inom ovanstående population testades åttioen (81) SLE-patienter och trettiotre (33) RA-patienter. De två kiten överensstämde för 82 % av dessa prover. Resultaten redovisas i tabell 2.

Tabell 2
Jämförande Data För Specifika Patientgrupper

Testresultat, MicroVue	-	+	-	+
Testresultat, alternativ test	-	+	+	-
RA-patienter	18	9	3	3
SLE-patienter	40	23	15	3
Övriga	0	90	2	0

PRESTANDAKARAKTERISTIKA

Noggrannhet

En immunkomplexstandard som upprättats av världshälsoorganisationen (WHO), som använder aggregat av IgG, användes för standardisering av analysen. För att testa analysens noggrannhet testades fem utspädningar av WHO-standarderna i tre exemplar i tre körningar i MicroVuekitet. De analyserade värdena konstaterades vara förutsägande för de förväntade standardkoncentrationerna (bestämmelefficient = 0,97).

Fyrtioen (41) par av serumprover och plasmaprover (EDTA-antikoagulant) från SLE- och RA-patienter jämfördes för kontroll av plasmaprovernas lämplighet för analysen. Ingen betydande skillnad kunde observeras mellan serum- och plasmaresultat (a = 0,05).

Reproducerbarhet

Tre serumprover och tre standarder testades i nio analyskörningar i tre olika kitsatser. Varje standard testades i tre exemplar vid varje analyskörning. Varje serumprov kördes i en enda brunn vid varje körning. Den genomsnittliga variationen mellan de olika körningarna för proven och standarderna redovisas som variation mellan analyser i tabell 3. Den genomsnittliga variationen för standarderna inom varje körning redovisas som variation inom analyser i tabell 3.

Tabell 3
Analysreproducerbarhet

	Medel (Eq/ml)	S.D. Mellan analyser (%CV)	S.D. Inom analyser (%CV)
Prov 1	30	ET	3.1 (10)
Prov 2	7	ET	2.6 (37)
Prov 3	0	ET	0.3 (---)
Standard 1	37	3.2 (9)	3.9 (11)
Standard 2	20	2.1 (10)	1.8 (9)
Standard 3	0	0.1 (---)	0.0 (---)

ET = ej testat --- = Ej tillämpligt

Känslighet

Analytkänsligheten för MicroVues enzymimmunoanalys för CIC-C1q är 1,0 µg Eq/ml.

Specificitet

Ett hundrasex (106) serum- och plasmaprover som tagits från normala, asymptomatiska subjekt testades för CIC. Specificiteten för analysen blev 94 %.

SUPPORT

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

REFERENSER

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 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 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

PIA001004SV00 (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
