

Enzymimmunanalys för mätning av mängden funktionellt C1-inhibitorprotein i human plasma eller humant serum

För *in vitro*-diagnostiskt bruk.

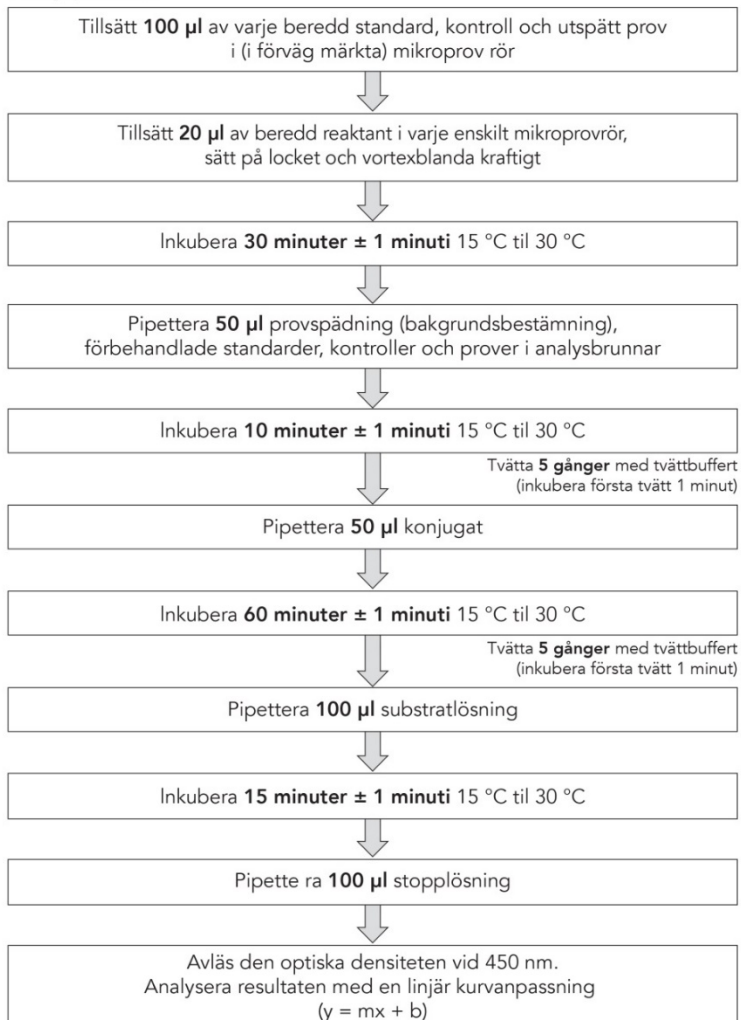
En symbolförklaring finns på quidel.com/glossary.

SAMMANDRAG

Reagens-, standard-, kontroll- och provförberedelse

- Späd tvättbuffertkoncentrat 1:20 med destillerat vatten
- Späd provspädningskoncentrat 1:5 med destillerat vatten
- Bered samtliga standarder och kontroller med 1,0 ml hydrerings reagens (låt stå i 15 minuter och blanda därefter grundligt)
- Bered C1-inhibitorreaktant med 0,5 ml hydreringsreagens (snurra försiktigt och låt stå i 15 minuter) (1 ampull räcker till ca 25 testprover)
- Späd provspädning 1: 101 med 1 X provspädning (t.ex. 10 µl + 1 ml)

Analysprocedur





AVSEDD ANVÄNDNING

MicroVue C1-Inhibitor enzymimmunanalys mäter mängden funktionellt C1-inhibitorprotein i human plasma eller humant serum.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

C1-Inhibitor (C1-INH) är en multispecifik proteashämmare som förekommer i normal human plasma och humant serum. Den reglerar enzymerna i komplement-, koagulerings-, fibrinolytisk- och kininbildningssystemen.¹ De enzymer (proteaser) som regleras av detta protein omfattar C1r och C1s underenheter av den aktiverade första beståndsdel i komplementet, aktiverad Hageman-faktor (faktor XIIa), Hageman-faktorfragment, aktiverad plasmatromboplastinföregångare (PTA eller faktor XIa), kallikrein (Fletcher-faktor) och plasmin.²

Brist på funktionellt aktivt C1-INH kan leda till livshotande angioödem. Två huvudformer av C1-INH-brist har rapporterats: den medfödda formen, kallad hereditärt angioödem,^{3,4} och den förvärvade formen som är förknippad med en rad olika sjukdomar, inklusive lymfoida maligniteter.⁵ Hereditärt angioödem kännetecknas av övergående men återkommande anfall av klådfria svullnader i olika vävnader runtom i kroppen. Symptombilden beror på de berörda organen. Tarmanfall leder till ett antal olika symptom, bl.a. smärta, kramper, kräkningar och diarré. Den vanligaste dödsorsaken vid denna sjukdom är luftvägsobstruktion som en följd av att laryngeala ödem uppstår under ett anfall. Det finns två typer av hereditära angioödem som kan särskiljas biokemiskt. Patienter med den vanligare formen (85 % av patienter med hereditärt angioödem) har låga nivåer av funktionellt C1-INH och C1-INH-antigen. Patienter med den andra formen (15 % av patienter med hereditärt angioödem) har låga nivåer av funktionellt C1-INH, men normala eller förhöjda nivåer av C1-INH-antigen, vilket har satts i samband med ett dysfunktionellt protein.⁶

Symptomens skiftande karaktär vid olika tidpunkter under sjukdomens förlopp utesluter definitiva diagnoser som enbart grundar sig på klinisk observation. Hereditärt eller förvärvat angioödem kan endast diagnostiseras definitivt genom laborietester som påvisar en avsevärd minskning i halten av funktionellt C1-INH i patientens plasma eller serum.

Flera metoder för mätning av funktionella eller antigeniska C1-INH-halter har rapporterats. Dessa metoder innefattar enzymhämmaranalyser,^{7,8} radial immundiffusion,⁹ immunoelektrofores och hämning av immunhemolys.¹⁰ Var och en av dessa metoder har sina nackdelar. Enzymhämmaranalyser⁷ är svåra att lägga upp och genomföra rutinmässigt, de immunokemiska metoder som används för mätning av totalt antigen kan inte särskilja mellan funktionellt och icke-funktionellt C1-INH-protein, medan anti-C1r-immundiffusionsmetoden,⁹ som utvecklades för att mäta funktionell C1-INH-aktivitet, inte är kvantitativ. MicroVue-analysen kan användas för kvantitativ mätning av halten av funktionellt aktivt C1-INH-protein som förekommer i patientens plasma eller serum med hjälp av en praktisk, standardiserad och reproducerbar EIA-metod.

FÖRFARANDETS PRINCIP

MicroVue C1-Inhibitor Plus enzymimmunanalys för kvantifiering av funktionellt C1-inhibitorprotein (en proteashämmare) i humant serum eller human plasma är en procedur i fyra steg. I det första steget inkuberas standarder, kontroller och testprover med C1-inhibitorreaktant (biotinylerat, aktiverat C1s). Under denna inkubation binder funktionellt aktivt C1-INH i standarder, kontroller och testprover till C1-inhibitorreaktanten och bildar komplex.

I det andra steget tillsätts en aliquot av inkubationsblandningarna som innehåller C1-inhibitorreaktant till mikrotitreringsbrunnar förbelagda med avidin. C1-inhibitorreaktant: C1-INH-komplex i standarder, kontroller eller prover binder till de avidinbelagda mikroanalysbrunnarna. Efter inkubation tar en tvättcykel bort obundet material.

I steg 3 tillsätts pepparrotsperoxidaskonjugerat (HRP-konjugerat) anti-humant C1-INH från get i samtliga testbrunnar. Under det här steget binder HRP-konjugerat anti-C1-INH till C1-inhibitorreaktanten: C1-INH-komplex som samlats på ytan av de avidinbelagda mikroanalysbrunnarna. Efter inkubation tar en tvättcykel bort överflödigt konjugat.

I det fjärde steget tillsätts ett kromogent enzymsubstrat till samtliga mikroanalysbrunnar. Det bundna HRP-konjugatet reagerar med substratet, vilket färgar lösningen blå. Efter inkubation stoppas enzymreaktionen kemiskt, färgen ändras till gult, och färgintensiteten mäts spektrofotometriskt vid 450 nm.

Reaktionsblandningens färgintensitet är proportionell mot den koncentration av funktionellt C1-INH-protein som förekommer i testprover, standarder och kontroller.

REAGENSER OCH MATERIAL SOM INGÅR

C1-Inhibitor enzymimmunanalys innehåller följande:

A	C1-INH-standarder	Art.nr A4469-A4473	2 ea x 1 ml
	(lyofiliserat) Innehåller efter beredning en känd mängd C1-inhibitor i human plasma, fosfatbuffrad saltlösning, stabilisatorer.		
L	Abnorm C1-INH-kontroll (human)	Art.nr A9524	2 x 1 ml
	(lyofiliserat) Efter beredning innehåller var och en human plasma med låg halt av C1-inhibitor i fosfatbuffrad saltlösning, stabilisatorer.		
N	C1-INH-kontroll (human)Normal	Art.nr A9523	2 x 1 ml
	(lyofiliserat) Efter beredning innehåller var och en human plasma med normal halt av C1-inhibitor i fosfatbuffrad saltlösning, stabilisatorer.		
1	Mikroanalysplatta	Art.nr 4634	1 ea
	Åtta brunnsremсор belagda med avidin i återförslutbar foliepåse.		
2	Stopplösning	Art.nr A9947	12 ml
	Innehåller 1N (4 %) saltsyra.		
3	20X lösningskoncentratWash	Art.nr A9957	2 x 50 ml
	Efter spädning innehåller var och en fosfatbuffrad saltlösning, 0,05 % Tween-20® och 0,035 % Proclin® 300.		
4	5X provspädningskoncentrat	Art.nr A9519	25 ml
	Innehåller efter spädning fosfatbuffrad saltlösning, stabilisatorer, 0,035 % ProClin 300.		
5	TMB-substrat	Art.nr 5059	12 ml
	Färdigt för användning. Innehåller tetrametylbenzidin (TMB) och väteperoxid.		
6	C1-inhibitorreaktant	Art.nr A9527	5 x 0,5 mL
	Efter beredning innehåller var och en biotinylerat (biotinkonjugerat), aktiverat C ₁ ^s i fosfatbuffrad saltlösning med stabilisatorer.		
7	C1-inhibitorkonjugat	Art.nr A9525	7 ml
	Innehåller peroxidaskonjugerat anti-human C1-inhibitor (från get) i fosfatbuffrad saltlösning, stabilisatorer.		
8	Hydreringsreagens	Art.nr A3675	25 ml
	Innehåller 0,035 % ProClin 300.		

Tween® 20 är ett registrerat varumärke som tillhör ICI Americas Inc.
ProClin® är ett registrerat varumärke som tillhör Rohm and Haas Company.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE MEDFÖLJER

- Timer (60-minuters).
- Miniräknare eller annan beräkningsmetod för validering av analysen.
- Rena, oanvända mikroanalysplattor och/eller provrör och ställ.
- Behållare för tvättbuffertlösning.
- Tvättflaska eller annat tvättsystem för immunanalys.
- Justerbar multikanalpipett (8 eller 12 kanaler) eller repetermikropipetter (tillval).
- Rena pipetter, 1 ml, 5 ml och 10 ml.
- Mikropipetter och pipettspetsar.
- Plattavläsare som klarar A_{450} -avläsningar vid en optisk densitet på mellan 0,0 och 3,0.
- Avjoniserat eller destillerat vatten.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- För *in vitro*-diagnostiskt bruk.
- Följ vedertagna försiktighetsåtgärder vid hantering av innehållet i denna sats och alla patientprover.
- Kassera behållare och oanvänt innehåll i enlighet med lokala och nationella förordningar.
- Använd medföljande reagenser som en integrerad enhet före det utgångsdatum som anges på förpackningens etikett.
- Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och ögon-/ansiktsskydd vid hantering av innehållet i denna sats.
- Förvara analysreagenser enligt anvisningarna.
- Undvik att skrapa eller vidröra brunnsbottnarna när vätska tillsätts eller aspireras från mikroanalysbrunnarna.
- Om andra inkubationstider och temperaturer än de som anges i proceduravsnittet används finns det risk för felaktiga resultat.
- Låt inte mikroanalysbrunnarna torka när analysen har påbörjats.
- Använd inga mikroanalysbrunnar för mer än ett test.
- Användning av multikanalpipetter eller repeterpipetter rekommenderas för att garantera tidsbestämd tillförsel av reagenser.
- Tillsätt prover och standarder exakt för korrekt mätning av prover. Pipettera noggrant och använd endast kalibrerad utrustning.
- Rätt provtagning och förvaring av testprover är avgörande för korrekta resultat.
- Undvik mikrobiell kontaminering eller korskontaminering av prover, reagenser eller material. Kontaminering kan ge upphov till felaktiga resultat.
- Stopplösningen anses vara frätande och kan orsaka irritation. Får inte förtäras. Undvik kontakt med ögon, hud och kläder. Vid kontakt ska det berörda området omedelbart sköljas med vatten. Kontakta läkare vid förtäring.
- ProClin 300 används som konserveringsmedel. Oavsiktlig kontakt med eller förtäring av buffertar eller reagenser som innehåller ProClin kan orsaka irritation på huden, i ögonen eller i munnen. Följ vedertagen laboratoriepraxis för att minska exponering. Sök läkarhjälp om dessa symptom uppträder.
- TMB-substratet måste skyddas mot ljus under förvaring och inkubation. Undvik kontakt med ögon, hud och kläder. Vid kontakt ska det berörda området omedelbart sköljas med vatten.
- Undvik aerosolbildning under tvätt genom att använda apparatur som aspirerar tvättvätskan i en flaskasom innehåller hushållsblekmedel.
- Värmeinaktiverade, hyperlipemiska eller kontaminerade prover kan ge felaktiga resultat.
- 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

Oöppnad sats förvaras vid 2 °C til 8 °C. När satsen har öppnats kan 20X tvättlösningskoncentrat och hydreringsreagens förvaras vid 2 °C til 30 °C.

När du har valt de reagenser eller material som ska användas i analysen ska du låta oanvända reagenser omedelbart återgå till lämplig förvaringstemperatur. Låt alla reagenser och allt material uppnå rumstemperatur (15 °C til 30 °C) före användning.

INDIKATIONER PÅ INSTABILITET HOS ELLER FÖRSAMRING AV REAGENSER

Grumling eller missfärgning av utspädd tvättlösning är tecken på reagensnedbrytning. Om detta händer ska lösningen kasseras.

PROVTAGNING OCH FÖRVARING

Iaktta vedertagna försiktighetsåtgärder vid hantering och kassering av alla prover.

För analysen krävs minst 10 µl serum eller EDTA-plasma. Alla prover ska tas med aseptisk teknik och förberedas enligt standardmetoder för kliniska laborietester. Nytagna icke-hemolyserade prover är att föredra. EDTA-plasmaprover kan förvaras i rumstemperatur (15 °C til 30 °C) i upp till 24 timmar. Serumprover ska inte förvaras i rumstemperatur i mer än sex timmar. Om förvaringen förväntas bli långvarig måste plasma- eller serumproverna förvaras frusna (–20 °C eller lägre). Undvik upprepade nedfrysning och upptining av prover. Avlägsna eventuella partiklar från provet genom centrifugering i låg hastighet före testning.

FÖRBEREDANDE AV REAGENS

Låt alla reagenser uppnå rumstemperatur (15 °C til 30 °C) före användning. Ställ tillbaka satsen i kylskåpet (2 °C til 8 °C) efter användning. När de reagenser och det material som behövs har tagits ut ska du låta oanvända artiklar återgå till lämplig förvaringstemperatur (se avsnittet *Förvaring*). Se tabellen för uppgifter om erforderliga reagens- och materialvolymmer.

1. **Tvättlösning**

Blanda 20X-tvättlösningskoncentratet genom att vända flaskan upp och ner flera gånger. Om 20X-tvättlösningskoncentratet har förvarats vid 2 °C til 8 °C kan kristaller ha bildats. Värm flaskan i ett vattenbad på 37 °C til 50 °C tills alla kristaller lösts upp. Blanda grundligt. Förbered tvättlösningen för tvättning av mikroanalysbrunnarna genom att späda allt innehåll i en av flaskorna med 20X tvättlösningskoncentrat med upp till en liter destillerat eller avjoniserat vatten. Blanda grundligt. Tvättlösningen är stabil i 30 dagar när den förvaras i en ren behållare vid 2 °C til 8 °C. Vid missfärgning eller grumling ska reagensen kasseras.

2. **Välja mikroanalysremсор**

Fastställ det antal prover som ska testas och lägg till femton (15) brunnar för de fem standarder, normalkontroller och abnorma kontroller som ska testas (i duplikat) och en brunn för bakgrundsbestämning. Duplikatstandarder och -kontroller bör om möjligt testas på separata mikroanalysremсор. Ta fram önskat antal remсор baserat på antalet erforderliga brunnar. Fäst de remсор som ska användas i plattans ram. Lägg tillbaka de remсор som inte behövs i förvaringspåsen, förslut den och förvara påsen vid en temperatur på 2 °C til 8 °C.

3. **Beredning av C1-inhibitorstandarder, kontroller och C1-inhibitorreaktant**

Tillsätt 1 ml hydreringsreagens i samtliga standardampuller (A-E) och samtliga kontroller. Tillsätt 0,5 ml hydreringsreagens till varje erforderlig ampull med C1-inhibitorreaktant (en ampull räcker till ca 25 testprover). Låt de beredda ampullerna rehydreras i minst 15 minuter vid 15 °C til 30 °C och blanda därefter grundligt. Undvik att det bildas skum eller bubblor under blandningen. Beredda standarder och kontroller är stabila i 30 dagar när de förvaras vid en temperatur på 2 °C til 8 °C. **OBS! Ytterligare spädning av beredda standarder och kontroller behövs inte innan analysen körs.** Eftersom fyra (4) ampuller med C1-inhibitorreaktant tillhandahålls kan upp till fyra (4) olika analyser köras med det

material som ingår i satsen. **Beredd C1-inhibitorreaktant förblir stabil i upp till tjugofyra (24) timmar vid en temperatur på 2 °C til 8 °C och upp till två (2) timmar vid en temperatur på 15 °C til 30 °C.**

4. Förberedelse av 1X provspädning

Se tabell 1 för att fastställa erforderlig volym för 1X provspädning. Förbered erforderlig volym 1X provspädning genom att blanda angivna volymer av destillerat eller avjoniserat vatten och 5X provspädningskoncentrat.

Tabell 1
1X Provspädning (krav och beredning)

Antal remsor	Erforderlig 1X-provspädningsvolym (ml)	Erforderlig reagensvolym	
		Vatten (ml)	5X provspädning (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. Provspädning

Fastställ det antal (n) prover som ska testas. Märk provrör från 1 till och med nr n och anteckna vilka prover som hör till respektive provrör. Bered 1 ml lösning i förhållandet 1:101 (10 µl prov i 1 ml 1X provspädning) för varje enskilt prov med hjälp av 1X provspädning. Blanda grundligt, men undvik att det bildas skum eller bubblor. Utspädda prover ska inte förvaras eller återanvändas.

ANALYSFÖRFARANDE

Läs hela bipacksedeln för produkten innan du påbörjar analysen.

Se avsnittet REAGENSBEREDNING innan du fortsätter.

1. Anteckna motsvarande mikroanalysbrunnspositioner för de enskilda testproverna, standarderna och kontrollerna, så väl som satsnumren på ampulletiketterna på ett datablad. Sätt en etikett i ena hörnet av mikroanalysplattan som riktningsanvisning.
2. Behandling av standarder, kontroller och testprover med C1-inhibitorreaktant:
 - a. Tillsätt 100 µl av respektive beredd C1-inhibitorstandard (A, B, C, D och E) i de i förväg märkta mikroprovrören.
 - b. Tillsätt 100 µl abnorm C1-inhibitor kontroll och 100 µl normal C1-inhibitor kontroll i de i förväg märkta mikroprovrören.
 - c. Tillsätt 100 µl av varje patientprov spätt till förhållandet 1:101 (se punkt 5 under *Provspädning*, i avsnittet *REAGENSBEREDNING*) i ett i förväg märkt mikroprov rör.
 - d. Tillsätt 20 µl av nyberedd C1-inhibitorreaktant i mikroprovrören med standarder, kontroller och spädda testprover. Vortexblanda varje mikroprov rör kraftigt.
 - e. Inkubera mikroprovrören i 15 °C til 30 °C i 30 minuter ± 1 minut.
3. Beroende på EIA-plattavläsarens krav ska en eller flera brunnar användas för bakgrundstämning och 50 µl 1X provspädning tillsätts i dessa mikroanalysbrunnar.

4. Tillsätt 50 µl av varje enskild C1-inhibitorreaktantsbehandlad (steg 2) standard och kontroll i motsvarande mikroanalysbrunnar avsedda för duplikat. Tillsätt 50 µl av varje enskilt C1-inhibitorreaktantsbehandlat (steg 2) prov i motsvarande mikroanalysbrunnar.
5. Inkubera i 15 °C til 30 °C i 10 minuter ± 1 minut.
6. Tvätta mikroanalysbrunnarna enligt följande:
OBS! Tvättningen av mikroanalysbrunnarna är ett kritiskt steg. Följ anvisningarna för tvättproceduren noggrant.
 - a. Efter inkubationen i steg 5 (eller steg 8 nedan) ska innehållet avlägsnas från samtliga brunnar.
 - b. Fyll alla brunnar med tvättlösning (ca 300 µl) med hjälp av en tvättflaska eller annan påfyllningsanordning.
 - c. Inkubera brunnarna i 1 minut i 15 °C til 30 °C.
 - d. Avlägsna innehållet ur samtliga brunnar.
 - e. Fyll alla brunnar med tvättlösning (ca 300 µl).
 - f. Avlägsna innehållet ur samtliga brunnar.
 - g. Upprepa steg e-f ytterligare tre gånger.**
 - h. Efter den femte tvättcykeln vänder du plattan upp och ner och knackar den ordentligt två gånger mot absorberande papper för att avlägsna all kvarvarande vätska. **Låt inte brunnarna torka ut.**
7. Använd en multikanals- eller repeterpipett och dispenserera 50 µl C1-inhibitor-konjugat i varje tvättad testbrunn, inklusive den eller de brunnar som används för bakgrundsbestämning.
8. Inkubera mikroanalysremsan i 15 °C til 30 °C i 60 minuter ± 1 minut.
9. Tvätta mikroanalysbrunnarna efter inkubationen på 60 minuter (steg 8) enligt anvisningarna i avsnittet *ANALYSPROCEDUR*.
10. Omedelbart efter tvättproceduren dispenserar du 100 µl TMB-substratlösning i varje brunn, inklusive brunnarna för bakgrundsbestämning.
11. Inkubera mikroanalysremsan i 15 °C til 30 °C i 15 minuter.
12. Tillsätt 100 µl stopplösning i varje brunn för att stoppa den enzymatiska reaktionen. Stopplösningen ska tillsättas i brunnarna i samma ordning och med samma hastighet som substratlösningen tillsattes. Knacka plattan försiktigt mot arbetsbänken för att åstadkomma en jämn fördelning av substratets färgutveckling.
13. Läs av absorbansen vid 450 nm (A_{450} -värde) för varje testbrunn inom en timme efter tillsättandet av stopplösningen (steg 12) genom att göra en bakgrundskorrigerigering i enlighet med det spektrofotometriska system som används.
14. Kassera återstående utspädda prover, kontroller, substrat, konjugat, C1-inhibitorreaktant och de använda mikroanalysremorna (se avsnittet *VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER*). Behåll remshållaren och remsfästet för framtida bruk.

KVALITETSKONTROLL

Enligt god laboratoriepraxis bör kontroller användas för att se till att analysen fungerar som den ska. Varje C1-Inhibitor Plus-sats innehåller normala och abnorma kontroller som är avsedda för detta ändamål. Dessa kontroller ska testas minst en gång för varje provsats, d.v.s. för varje enskild körning. När kontrollerna används enligt anvisningarna ska de ge en andel medelnormalvärden som ligger inom de intervall som anges på ampullernas etikett. Eftersom dessa kontroller ska behandlas med reaktant och testas exakt på samma sätt som ett typiskt prov fungerar de som kontroller vid varje enskild C1-Inhibitor Plus-körning. Externa kontroller, förberedda på laboratoriet, kan också användas för att se till att analysen fungerar som den ska.

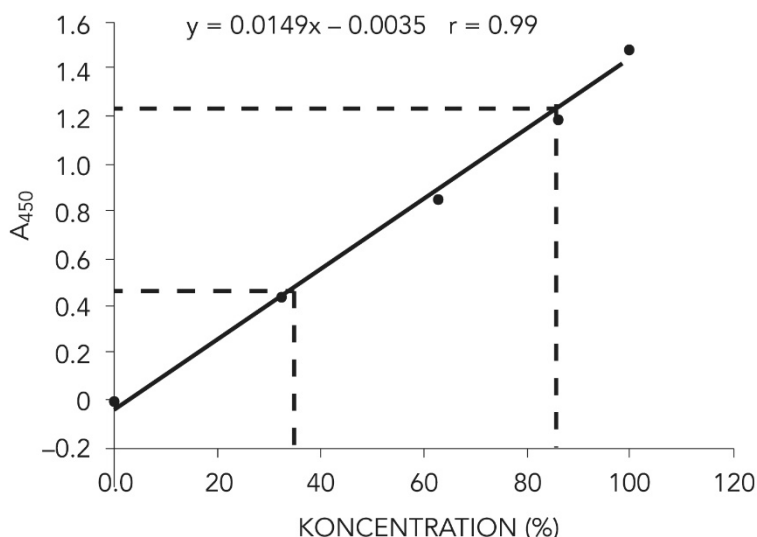
Dessutom krävs att den standardkurva som genereras med satsens standarder A–E uppfyller stränga valideringskrav (se avsnittet *TOLKNING AV RESULTAT* i denna bipacksedel). Standarder ska testas i duplikat för varje enskild analyskörning. Om analysen inte uppfyller dessa krav ska du upprepa analysen eller kontakta Quidels tekniska support.

TOLKNING AV RESULTATEN

Beräkning av resultat

Standardkurvan genereras med hjälp av de subtraherade A_{450} -bakgrundsvärdena för respektive standard (på y-axeln) och den tilldelade koncentrationen för respektive standard (på x-axeln). Standardkurvan måste uppfylla valideringskraven. De flesta datorer och miniräknare klarar av att utföra denna beräkning. Ett exempel på en typisk standardkurva visas i figur 1.

Figur 1
Exempel på standardkurva



Den procentuella koncentrationen för varje enskilt prov beräknas från standardkurvan med hjälp av linjär regressionsanalys.

Validering

Fastställ den härledda bästa diagramkurvas lutning, intercept och korrelationskoefficient. Värdena måste ligga inom följande intervall för att kvalificera analysen:

korrelationskoefficient (r):	större än 0,95
lutning (m):	0,0107 til
y-intercept (b):	0,0262(-)0,1685
	til 0,0910

Tolkning

Koncentrationen av funktionellt C1-INH i ett enskilt prov rapporteras som en procentandel av medelhalten hos normalprover. Baserat på ett provuttag från 100 normala försökspersoner som analyserades av tre laboratorietekniker fastställdes en medelnormalhalt för funktionellt C1-INH med hjälp av denna analys (se avsnittet *Noggrannhet* i RESULTATEGENSKAPER). Andelen medelnormala (i procent) för varje enskilt testprov spätt 1:101 fastställs enligt beskrivningen i avsnittet *Resultatberäkning*.

Onormala resultat: C1-INH-koncentrationer som understiger eller är lika med 40 % av medelvärdet betraktas som avsevärt lägre än normalt och ska anses vara onormala resultat. Prover som vid upprepad testning utfaller som tvetydiga (se nedan) kan också betraktas som onormala.

Tvetydiga resultat: C1-INH-koncentrationer i intervallet 41-67 % av medelvärdet är, trots att de är lägre än det förväntade normalvärdet, inte avsevärt lägre än normalt och betraktas därför som tvetydiga resultat.

För sådana prover kan du antingen välja att upprepa testet eller ta ett nytt prov och testa det. Om ett tvetydigt provresultat vid upprepad testning åter ger ett tvetydigt resultat ska provet betraktas som avsevärt lägre än normalt och kan rapporteras som ett onormalt resultat.

Normala resultat: Koncentrationer som är lika med eller överstiger 68 % av medelnormalvärdet betraktas som normala resultat.

PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

MicroVue C1-Inhibitor Plus enzymimmunanalys har använts för att testa prover tagna som serum eller som plasma i EDTA. Andra antikoagulanter än EDTA har inte testats.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Ett hundra (100) normala serumprover från fyrtionio (49) pediatrika och femtioen (51) vuxna försökspersoner testades med MicroVue C1-Inhibitor enzymimmunanalys. Det förelåg inga avsevärda skillnader mellan prover från pediatrika och vuxna försökspersoner. Den genomsnittliga koncentrationen av C1-INH-protein i dessa prover definierades som 100 % av medelnormalvärdet (standardavvikelse = 15,8%).

Parvisa EDTA-plasma- och serumprover togs från femton (15) normala vuxna försökspersoner och testades i analysen. Det förelåg inga avsevärda skillnader mellan dessa provtyper.

Prover från tjugoåtta (28) olika patienter med dokumenterad C1-inhibitorbrist testades i analysen. Dessa prover togs vid flera olika institutioner i olika delar av USA. Samtliga de tjugoåtta testade patienterna uppvisade avsevärt lägre halter av funktionellt C1-INH än medelnormalnivån. Dessa data redovisas i tabell 2.

Tabell 2
Patienter Med Angioödem

Patient-nr	Plats	Procentandel av	
		medelnormalvärde (%)	Tolkning
1P*	A	19	Onormalt
1S*	A	37	Onormalt
2**	A	0	Onormalt
2**	A	6	Onormalt
3	A	0	Onormalt
4	A	17	Onormalt
5	A	6	Onormalt
6	A	0	Onormalt
7	A	0	Onormalt
8†	A	56	Onormalt
9†	A	61	Onormalt
10	B	8	Onormalt
11	C	0	Onormalt
12	D	28	Onormalt
13	D	14	Onormalt
14	D	32	Onormalt
15	D	21	Onormalt
16†	D	45	Onormalt
17	D	3	Onormalt
18	D	24	Onormalt
19	E	0	Onormalt
20	E	0	Onormalt
21	E	2	Onormalt
22	E	13	Onormalt
23	E	17	Onormalt
24	E	19	Onormalt
25	E	4	Onormalt
26	E	3	Onormalt
27†	E	44	Onormalt
28	E	0	Onormalt

*1S är serum och 1P är EDTA-plasma som tagits från en patient vid samma tillfälle.

**De två proverna från patient 2 togs med tre års mellanrum.

†Vid upprepad testning var resultaten för dessa patienter tvetydiga och bedömdes därför som onormala.

PRESTANDAKARAKTERISTISKA

Noggrannhet

Med hjälp av en modell för linjär regression fördelades de C1-inhibitorkoncentrationer som uppmättes vid EIA-analysen för femton normala sera på basis av deras koncentrationer enligt den bestämning som gjordes med hjälp av en metod för radial immundiffusion. C1-INH-koncentrationen i den primära standarden bestämdes med hjälp av värdetilldelade satsstandarder baserat på den linjära regressionsmodellen. För att testa modellens noggrannhet gjordes också sex C1-INH-koncentrationsbestämningar med hjälp av den radially immundiffusionsmetoden för den primära standarden. Dessa två metoder för mätning av C1-INH-koncentrationer skiljde sig inte nämnvärt åt. Det medelvärde som erhöles för 100 normala serumprover i MicroVue C1-Inhibitor enzymimmunanlys var 182 µg/ml. Detta värde överensstämmer väl med den publicerade normalkoncentrationen på 180 µg/ml.

Precision

Tre satsloter utvärderas. Varje lot testades tre gånger av olika laboratorietekniker. Proverna testades i replikat om tre i var och en av de nio analyskörningarna. I tabell 3 redovisas variationerna inom och mellan analyserna.

Tabell 3
Analysens Reproducerbarhet

Typ	C1-inhibitor (%)	CV ¹ inom analys (%)	CV ² mellan analyser (%)
Prov 1	105,2	3,3	5,7
Prov 2	78,54	4,0	5,7
Prov 3	21,48	5,4	6,4
Prov 4	16,42	5,1	10,0

¹n = 20 replikat ²n = 10 analyser

Specificitet

Det anti-human C1-INH från get som användes för framställning av konjugatet jämfördes med andra kommersiellt tillgängliga och FDA-godkända C1-INH-antikroppar. Den uppvisade en enkel identitetslinje vid ett immundiffusionstest. Dessutom bedömdes Quidels antiserum vara monospecifikt för C1-INH vid testning vid olika koncentrationer mot nytaget normalt humant serum som innehöll 10 mM EDTA genom dubbel immundiffusion, en- och tvådimensionell immunoelektrofores samt raketimmunoelektrofores.

SUPPORT

För beställningar och teknisk support, kontakta en Quidel-representant på 800.874.1517 eller 858.552.1100, kl. 8–17 Eastern Time (CET –9 h), måndag–fredag. Beställningar kan också göras per fax på 740.592.9820.

För support utanför USA ska du kontakta den lokala distributören. Du hittar ytterligare information om Quidel, våra produkter och våra distributörer på vår webbplats på quidel.com.

REFERENSER

1. Ratnoff, O.D., J. Pensky, 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. Pensky, 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

PIA037003SV00 (02/20)

ORDLISTA

REF

Katalognummer



CE-märkning om överensstämmelse

EC REP

Auktoriserad representant inom europeiska gemenskapen

LOT

Satskod



Använd före



Tillverkare



Temperaturbegränsning



Avsedd användning

Rx ONLY

Receptbelagt



Konsultera e-märkning bruksanvisning



Biologisk risk

IVD

För *in vitro*-diagnostik



Innehållet räcker till 96 bestämningar

CONT

Innehåll/innehåller

CONTROL

Kontroll
