

Enzym-immunoassay til måling af mængden af funktionelt C1-inhibitorprotein i humant plasma eller serum

Til brug til *in vitro*-diagnostik.

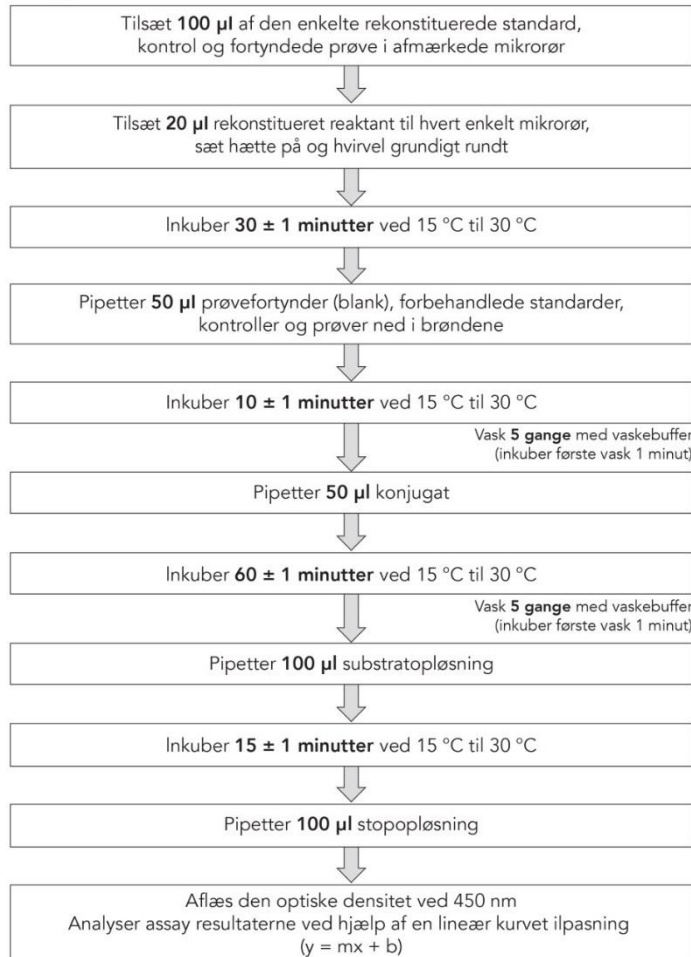
En symbolforklaring kan findes under quidel.com/glossary.

OPSUMMERING

Klargøring af reagens, standarder, kontroller og prøver

- Fortynd vaskebufferkoncentratet 1:20 med afioniseret vand
- Fortynd prøvafortynderkoncentrat 1:5 med afioniseret vand
- Rekonstituer hver standard og kontrol med 1,0 ml hydreringsreagens (lad hvile i 15 minutter, og bland derefter grundigt)
- Rekonstituer C1-Inhibitor-reaktant med 0,5 ml hydreringsreagens (ryst stille og roligt, og lad hvile i 15 minutter) (et hætteglas til ca. 25 testprøver)
- Fortynd prøvafortynderen 1:101 med 1X prøvafortynder (f.eks. 10 µl + 1 ml)

Assayprocedure





TILSIGTET ANVENDELSE

MicroVue C1-Inhibitor enzym-immunoassayet måler mængden af funktionelt C1-inhibitorprotein i humant plasma eller serum.

OPSUMMERING OG FORKLARING

C1-Inhibitor (C1-INH) er en proteaseinhibitor, der kan have flere forskellige bindinger. Den findes i normalt, humant plasma og serum og regulerer enzymerne i komplementære, koagulerende, fibrinolytiske og kinindannende systemer.¹ De enzymer (proteaser), der reguleres af dette protein, omfatter underenhederne C1r og C1s af den først aktiverede komponent af komplementet, aktiveret Hageman-faktor (faktor XIIa), Hageman-faktor fragmenter, aktiveret plasma tromboplastin antecedent (PTA eller faktor XIa), kallikrein (Fletcher-faktor) samt plasmin.²

Mangel på funktionelt aktivt C1-INH kan medføre livstruende Quinckes ødem. Der er meldt om to mere alvorlige former for mangel på C1-INH: den medfødte form (betegnet hereditært Quinckes ødem)^{3,4} og den erhvervede form, som er forbundet med flere forskellige sygdomme, herunder lymfoide maligniteter.⁵ Hereditært Quinckes ødem er karakteriseret af transiente, men gentagne anfald med hævelse uden kløe af forskelligt væv rundt om i kroppen. Symptomerne afhænger af de involverede organer. Tarmangreb fører til en række forskellige symptomer herunder smerter, kramper, opkastning og diarre. Ved denne sygdom er den hyppigste dødsårsag obstruktion af luftvejene som følge af larynxødem under et anfald. Der er to typer hereditært Quinckes ødem, der kan skelnes biokemisk fra hinanden. Patienter med den mere almindelige type (85 % af patienterne med hereditært Quinckes ødem) udviser lave værdier for funktionelt C1-INH og C1-INH-antigen. Patienter med den anden type (15 % af patienterne med hereditært Quinckes ødem) udviser lave værdier for funktionelt C1-INH, men normale eller forhøjede værdier for C1-INH-antigen, hvilket associeres til et dysfunktionelt protein.⁶

Pga. de vekslende symptomer på forskellige tidspunkter af sygdomsforløbet kan der ikke stilles en endelig diagnose udelukkende ud fra klinisk observation. Der kan kun stilles en endelig diagnose for hereditært eller erhvervet Quinckes ødem på basis af laboratorieundersøgelser, der påviser en markant reduktion i værdierne for funktionelt C1-INH i en patients plasma eller serum.

Der er meldt om flere forskellige metoder til måling af funktionelle eller antigene værdier for C1-INH. Disse metoder omfatter enzyminhiberingsassayer,^{7,8} radial immundiffusion,⁹ immunoelektroforese og inhibering af immunhæmolyse.¹⁰ Der er ulemper ved alle metoderne. Det er vanskeligt at opsætte og gennemføre enzyminhibitionassayer⁷ rutinemæssigt, de immunkemiske metoder, der måler den samlede mængde antigen, kan ikke skelne mellem funktionelt og ikke-funktionelt C1-INH-protein, og immundiffusionsmetoden anti-C1r⁹, der blev udviklet for at kunne måle aktiviteten af funktionelt C1-INH, er ikke kvantitativ. MicroVue-assayet kan måle den kvantitative mængde af funktionelt aktivt C1-INH-protein i en patients plasma eller serum vha. en praktisk anvendelig, standardiseret og reproducerbar EIA-procedure.

PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue C1-Inhibitor Plus-enzym-immunoassayet til kvantitativ måling af funktionelt C1-Inhibitor-protein (en proteaseinhibitor) i humant serum eller plasma består af fire trin. Under første trin inkuberes standarder, kontroller og testpræparater med C1-Inhibitor-reaktant (biotinyleret, aktiveret C1s). Under denne inkubation bindes funktionelt aktivt C1-INH, der forefindes i standarder, kontroller og prøver, til C1-Inhibitor-reaktanten, så der dannes komplekser.

Under andet trin tilsættes en alikvot af inkuberingsblandingen indeholdende C1-Inhibitor-reaktant til mikrotiterbrønde, der er forsynet med en avidinbelægning. C1-Inhibitor-reaktant: C1-INH-komplekser til stede i standarder, kontroller eller prøver binder sig til mikrobrønde med avidinbelægning. Efter inkubation fjerner en vaskecyklus ubundet materiale.

I trin tre tilsættes peberrodsperoxidase (HRP)-konjugeret ged anti-humant C1-INH til hver testbrønd. Under dette trin bindes HRP-konjugeret anti-C1-INH sig til C1-Inhibitor-reaktanten: C1-INH-komplekser, der blev absorberet af overfladen af de avidinbelagte mikrobrønde. Efter inkubation fjerner en vaskecyklus overskydende materiale.

I trin fire tilsættes et kromogent enzymsubstrat til hver mikrobrønd. Det bundne HRP-konjugat reagerer med substratet og danner en blå farve. Efter inkubation stoppes enzymreaktionen kemisk, farven skifter til gul, og farveintensiteten måles spektrofotometrisk ved 450 nm. Reaktionsblandingsens farveintensitet er proportional med den koncentration af C1-INH-protein, der findes i testpræparater, standarder og kontroller.

LEVEREDE OG MATERIALER REAGENSER

C1-Inhibitor enzym-immunoassay indeholder følgende:

A	C1-INH-standarder (lyofiliseret) Når de er rekonstituerede, indeholder hver enkelt en kendt mængde C1-Inhibitor i humant plasma, PBS, stabilisatorer	Varenr. A4469-A4473	2 stk. x 1 ml
L	C1-INH abnorm kontrol (human) (lyofiliseret) Når de er rekonstituerede, indeholder hver enkelt humant plasma med et lavt indhold af C1-Inhibitor i PBS, stabilisatorer	Varenr. A9524	2 x 1 ml
N	C1-INH-kontrol (human) (lyofiliseret) Når de er rekonstituerede, indeholder hver enkelt humant plasma med et normalt indhold af C1-Inhibitor i PBS, stabilisatorer	Varenr. A9523	2 x 1 ml
1	Mikroplade Strips med otte avidinbelagte brønde i foliepose med lukkefunktion	Varenr. 4634	1 stk.
2	Stopopløsning Indeholder 1N (4 %) saltsyre	Varenr. A9947	12 ml
3	20X Vaskeopløsnings-Koncentrat Efter fortynding indeholder hver enkelt fosfatbufret saltvand (PBS), 0,05 % Tween-20® og 0,035 % ProClin® 300	Varenr. A9957	2 x 50 ml
4	5X prøvefortyndings-koncentrat Indeholder efter fortynding PBS, stabilisatorer, 0,035 % ProClin 300	Varenr. A9519	25 ml
5	TMB-substrat Klar til brug. Indeholder tetramethylbenzidin (TMB) og hydrogenperoxid	Varenr. 5059	12 ml
6	C1-Inhibitor reaktant Efter rekonstituering indeholder hver biotinyleret (biotinkonjugeret), aktiveret C _{1s} i PBS med stabilisatorer	Varenr. A9527	5 x 0,5 ml
7	C1-Inhibitor-konjugat Indeholder peroxidasekonjugeret (ged) anti-human C1-Inhibitor i PBS, stabilisatorer	Varenr. A9525	7 ml
8	Hydreringsreagens Indeholder 0,035 % ProClin 300	Varenr. A3675	25 ml

Tween® 20 er et registreret varemærke tilhørende ICI Americas Inc.
ProClin® er et registreret varemærke tilhørende Rohm and Haas Company.

NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDLEVEREDE MATERIALER

- Timer (til 60 minutter)
- Regnemaskine eller anden udregningsmetode til validering af assayet
- Rene, ubrugte mikroplader og/eller reagensglas og stativer
- Beholder til vaskebufferfortynding
- Vaskeflaske eller andet vaskesystem til immunoassay
- Justerbar multikanalpipette (8 eller 12 kanaler) eller gentagemikropipetter (ekstraudstyr)
- Rene pipetter, 1 ml, 5 ml og 10 ml
- Mikropipetter og pipettespidser
- Pladelæser, der kan foretage A₄₅₀- aflæsninger med en optisk densitet på mellem 0,0 og 3,0
- Afioniseret eller destilleret vand

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Til brug til *in vitro*-diagnostik.
- Følg gældende retningslinjer for håndtering af dette kit og eventuelle patientprøver.
- Bortskaf beholdere og ubrugt indhold i overensstemmelse med gældende reglement.
- Brug de leverede reagenser som en integreret enhed inden udløbsdatoen, som er angivet på pakningens etiket.
- Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ ansigtsskærm ved håndtering af dette kit.
- Opbevar assayreagenser som angivet.
- Når der tilsættes eller udluftes væske fra mikrobrøndene, må bunden af brønden hverken skrubes eller berøres.
- Andre inkuberingstider og temperaturer end de, der er angivet i afsnittet Procedure, kan give fejlagtige resultater.
- Mikrobrøndene må ikke tørre, efter at assayet er begyndt.
- En mikrobrønd må ikke anvendes til mere end én test.
- Brug af multikanalpipetter eller gentagepipetteringer anbefales for at sikre rettidig tilførsel af reagenser.
- Tilsæt prøver og standarder så præcist som muligt for at opnå nøjagtige målinger af prøverne. Pipetter omhyggeligt og kun ved hjælp af kalibreret udstyr.
- Korrekt indsamling og opbevaring af testpræparater er altafgørende for nøjagtige resultater.
- Undgå mikrobiel- eller krydskontaminering af prøver, reagenser og materialer. Der kan ved kontaminering opnås forkerte resultater.
- Stopopløsningen anses for ætsende og kan forårsage irritation. Må ikke indtages. Undgå kontakt med øjne, hud og beklædning. Hvis der forekommer kontakt, skal det berørte område øjeblikkeligt skylles grundigt med vand. Ved indtagelse kontaktes en læge.
- ProClin 300 anvendes som et konserveringsmiddel. Tilfældig kontakt med eller indtagelse af buffere eller reagenser, der indeholder ProClin, kan forårsage irritation af hud, øjne eller mund. Anvend god laboratoriepraksis for at reducere risiko for eksponering. Søg læge, hvis der skulle opstå symptomer.
- TMB-substratet skal beskyttes mod lys under opbevaring og inkubation. Undgå kontakt med øjne, hud og beklædning. Hvis der forekommer kontakt, skal det berørte område øjeblikkeligt skylles grundigt med vand.
- For at undgå aerosoldannelse under vasken skal der anvendes et apparat til at aspirere vaskevæsken ind i en flaske med alm. blegemiddel.
- Varme-inaktiverede, hyperlipæmiske eller kontaminede prøver kan give fejlagtige resultater.
- 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 uopnåede sæt ved 2°C til 8°C. Efter åbning af sættet kan 20X vaskeopløsningskoncentratet og hydreringsreagenset opbevares ved 2°C til 30°C.

Når de reagenser eller materialer, der skal bruges i assayet, er udvalgt, returneres de ubrugte reagenser straks til passende opbevaringstemperatur. Reagenser og materialer skal have rumtemperatur (15°C til 30°C) før brug.

INDIKATIONER OM USTABILITET ELLER FORRINGELSE AF REAGENSERNE

Uklarhed eller misfarvning af den fortyndede vaskeopløsning er tegn på nedbrydning af reagentet. Skulle dette forekomme, skal opløsningen kasseres.

PRØVEUDTAGNING OG OPBEVARING

Håndter og bortskaf alle prøver under iagttagelse af universelle forholdsregler.

Der skal bruges mindst 10 µl serum eller EDTA-plasma til assayet. Alle præparater skal indsamles aseptisk og klargøres vha. standard teknikker til klinisk laboratorietestning. Frisk udtrukne, ikke-hæmolyserede præparater foretrækkes. En EDTA-plasmaprøve kan opbevares ved rumtemperatur (15°C til 30°C) i op til 24 timer. En serumprøve må ikke opbevares ved rumtemperatur i mere end seks timer. Hvis længerevarende opbevaring kan forventes, skal plasma- eller serumprøven opbevares i frossen tilstand (-20°C eller derunder). Undgå gentagen frysning og optøning af prøven. Evt. partikelstoffer skal renses fra præparatet med centrifugering ved lav hastighed før testning.

KLARGØRING AF REAGENS

Alle reagenser skal have rumtemperatur (15°C til 30°C) før brug. Efter brug placeres sættet igen i køleskab (2°C til 8°C). Efter de nødvendige reagenser og materialer er taget ud, skal de ubrugte materialer lægges tilbage i de passende opbevaringstemperaturer (se *OPBEVARING*). De påkrævede mængder reagens og materialer fremgår af oversigten.

1. Vaskeopløsning

Bland 20X vaskeopløsnings- koncentrationen ved at vende flasken flere gange. Hvis 20X vaskeopløsningskoncentrationen er blevet opbevaret ved 2°C til 8°C, kan der være dannet krystaller. For at opløse krystallerne skal flasken varmes i et 37°C til 50°C vandbad, indtil alle krystallerne er opløst. Bland grundigt. Klargør vaskeopløsningen til vask af mikrobrøndene ved at fortynde hele indholdet af en af flaskerne med 20X vaskeopløsningskoncentrationen i op til én liter destilleret eller afioniseret vand. Bland grundigt. Vaskeopløsningen er stabil i 30 dage ved opbevaring i en ren beholder ved 2°C til 8°C. Hvis der opstår misfarvning eller uklarhed, skal reagentet bortskaffes.

2. Valg af mikrostrips

Find ud af, hvor mange præparater der skal testes, og afsæt 15 brønde til de fem standarder, normale og abnorme kontroller, der skal testes (dupliserede), og en ekstra. Det anbefales at teste dupliserede standarder og kontroller i særskilte mikrostrips, når det kan lade sig gøre. Fjern det ønskede antal strips ud fra antallet af nødvendige brønde. Fastgør de valgte strips, der skal bruges, i pladerammen. Sæt de strips, der ikke er brug for, tilbage i opbevaringsposen, luk den tæt til, og opbevar den ved 2°C til 8°C.

3. Rekonstituering af C1-inhibitor-standarder, -kontroller og C1-inhibitor-reaktant

Tilsæt 1 ml hydreringsreagens til hvert enkelt standard hætteglas (A-E) og til hver kontrol. Tilsæt 0,5 ml hydreringsreagent til hver enkelt påkrævet hætteglas med C1-Inhibitor-reaktant. (Der bruges ca. et hætteglas for hver 25 testprøver.) Lad de rekonstituerede hætteglas rehydrere i mindst 15 minutter ved 15°C til 30°C efterfulgt af grundig blanding. Undgå, at der dannes skum eller bobler under blandingen. Rekonstituerede standarder og kontroller er stabile i 30 dage ved opbevaring ved 2°C til 8°C. **BEMÆRK: Det er ikke nødvendigt med yderligere fortynding af rekonstituerede standarder og kontroller, før assayet køres.** Eftersom der medfølger fire hætteglas C1-Inhibitor-reaktant, kan brugeren udføre op til fire forskellige assaykørsler med leverede materialer. **Rekonstitueret C1-Inhibitor-reaktant er stabilt i op til 24 timer ved 2°C til 8°C og op til to timer ved 15°C til 30°C.**

4. Klargøring af 1X prøvefortynder

Den påkrævede mængde 1X prøvefortynder kan aflæses af Tabel 1. Gør den ønskede mængde 1X prøvefortynder klar ved at blande de angivne mængder destilleret eller afioniseret vand med 5X prøvefortynderkoncentrat.

Tabel 1
1X Prøvefortynder (krav og klarlægning)

Antal strips	Nødv. 1X prøvefortynder (ml)	Nødv. mængde reagens	
		Vand (ml)	5X prøvefortynder (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. Prøvefortynding

Find det antal (N) prøver, der skal testes. Mærk reagensglassene 1-N, og notér, hvilken prøve der svarer til hvilket glas. Opløs 1 ml af en 1:101 fortynding (10 µl prøve i 1 ml 1X prøvefortynder) for hver prøve med 1X prøvefortynder. Bland grundigt, men undgå, at der dannes skum og bobler. Fortyndede prøver må ikke opbevares eller genbruges.

ANALYSEPROCEDURE

Læs hele indlægssedlen, inden assayet startes.

Se *KLARGØRING AF REAGENS*, før der fortsættes.

- Notér mikrobrøndenes positioner, der svarer til alle testprøver, standarder og kontroller, såvel som de anførte lotnumre fra hætteglasetiketterne på et datablad. Markér det ene hjørne af mikropladen for orientering.
- Behandling af standarder, kontroller og testprøver med C1-Inhibitor-reaktant:
 - Hæld 100 µl af hver rekonstituerede C1-Inhibitor-standard (A, B, C, D, E) i allerede afmærkede reagensglas.
 - Hæld 100 µl C1-Inhibitor abnorm kontrol og 100 µl C1-Inhibitor normal kontrol i allerede afmærkede reagensglas.
 - Hæld 100 µl 1:101 fortynding af hver enkelt patientprøve (se *Prøvefortynding*, punkt 5 under *KLARGØRING AF REAGENS*) i et allerede afmærket reagensglas.
 - Hæld 20 µl frisk rekonstitueret C1-Inhibitor-reaktant i reagensglas indeholdende standarder, kontroller og fortyndede testprøver. Kør hver enkelt reagensglas kraftig rundt.
 - Inkuber reagensglassene ved 15°C til 30°C i 30 ± 1 minutter.
- Alt efter kravene for EIA-pladelæseren vælges en eller flere brønde, der skal være tomme, og føj 50 µl 1X prøvefortynder til disse mikrobrønde.
- Føj 50 µl af hver C1-Inhibitor-reaktantbehandlet (trin 2) standard og kontrol for at duplikere de tildelte mikrobrønde. Føj 50 µl af hver C1-Inhibitor-reaktantbehandlet (trin 2) prøve til dens tildelte mikrobrønd.

5. Inkuber ved 15°C til 30°C i 10 ± 1 minutter.
6. Vask mikrobrøndene som følger:
Bemærk: Det er yderst vigtigt at mikrobrøndene vaskes. Følg vaskeanvisningerne nøje.
 - a. Efter inkubation under trin 5 (eller under trin 8 nedenfor) tømmes alle brønde for indhold.
 - b. Fyld alle brønde med vaskeopløsning (ca. 300 µl) med en vaskeflaske eller andet velegnet instrument.
 - c. Inkuber brøndene i 1 minut ved 15°C til 30°C.
 - d. Tøm hver brønd for indhold.
 - e. Fyld alle brønde med vaskeopløsning (ca. 300 µl).
 - f. Tøm hver brønd for indhold.
 - g. Gentag trin e-f tre gange mere.**
 - h. Efter den femte vaskecyklus vendes pladen og bankes godt mod absorberende papir to gange for at fjerne eventuel resterende væske. **Brøndene må ikke tørre.**
7. Anvend en multikanals- eller gantagepipette til at dispensere 50 µl C1-Inhibitor-konjugat i alle vaskede testbrønde, herunder de(n) tomme brønd(e).
8. Inkuber mikrostrips ved 15°C til 30°C i 60 ± 1 minutter.
9. Vask mikrobrøndene efter 60 minutters inkubation (trin 8), som beskrevet under *ASSAYPROCEDURE*.
10. Umiddelbart efter vaskeproceduren skal der dispenseres 100 µl TMB-substratopløsning ned i hver brønd, herunder de(n) tomme.
11. Inkuber mikrostrips ved 15°C til 30°C i 15 minutter.
12. Tilsæt 100 µl stopopløsning til hver brønd for at stoppe den enzymatiske reaktion. Stopopløsningen skal tilsættes brøndene i samme rækkefølge og med samme hastighed som substratopløsningen. Bank pladen let på bordpladen for at sprede farveudviklingen jævnt og fuldstændigt hen over substratet.
13. Bestem absorbans aflæsningen ved 450 nm (A_{450} værdi) for hver testbrønd samt inden for en time efter tilsætning af stopopløsningen (trin 12), idet der foretages en blank korrektion i overensstemmelse med det spektrofotometriske system, der anvendes.
14. Kassér de resterende fortyndede prøver, kontroller, substrat, konjugat, C1-Inhibitor-reaktant og de brugte mikrostrips (se *ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER*). Gem stripstativ og stripholder til senere brug.

KVALITETSKONTROL

God laboratoriepraksis anbefaler brug af kontroller for at sikre, at analysen udføres korrekt. Hvert C1 Inhibitor Plus-kit indeholder normale og anormale kontroller, som kan anvendes til dette formål. Disse kontroller skal testes mindst en gang for hver parti af prøver og for hver kørsel. Disse kontroller skal, når de bruges som anvist, give en procentdel af gennemsnitsværdier for normalen inden for de områder, der angives på analysecertifikatet. Da disse kontroller skal reaktant-behandles og analyseres nøjagtigt som en almindelige prøve, tjener de som kontroller for hver C1-inhibitor-kørsel. Eksterne kontroller, der klargøres af dit laboratorium, kan også bruges til at hjælpe med at sikre, at analysen udføres korrekt. Desuden er der i indlægssedlen opstillet krav til, at de standard kurver, der genereres med A-E-standarderne i sættet, opfylder strenge valideringskrav (se *FORTOLKNING AF RESULTATER*). Standarderne skal testes i duplikat for hver assaykørsel. Hvis assayet ikke opfylder disse krav, skal den gentages, eller teknisk assistance fra Quidel skal kontaktes.

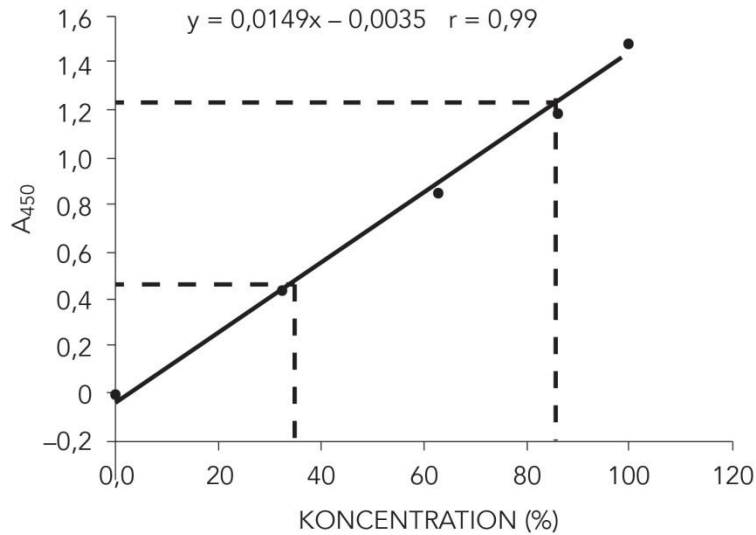
FORTOLKNING AF RESULTATER

Beregning af resultater

Standardkurven genereres ved at anvende de blank-fratrukne A_{450} -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. Der er vist et eksempel på en typisk standard kurve i figur 1.

Figur 1

Repræsentativ standard kurve



Ud fra standardkurven beregnes den procentvise koncentration for hver prøve ved brug af en lineær regressionsanalyse.

Validering

Bestem hældning, afskæring og korrelationskoefficient for den fremkomne best-fit linje. Værdierne skal ligge inden for følgende intervaller for at kvalificere assayet:

korrelationskoefficient (r):	større end 0,95
hældning (m):	0,0107 til 0,0262
y-skæringspunkt (b):	(-)0,1685 til 0,0910

Fortolkning

Koncentrationen af funktionelt C1-INH i en given prøve rapporteres som en procentdel af middelniveauet i normale prøver. På grundlag af prøver fra 100 normale individer, der hver blev analyseret af tre teknikere, blev der bestemt et middelniveau af funktionelt C1-INH med dette assay (se *RESULTATKARAKTERISTIKA, nøjagtighed*). Procentdelen af middelniveauet for en given prøve fortyndet i forholdet 1:101 bestemmes som anvist i afsnittet *Beregning af resultater*.

Abnorme resultater: C1-INH-koncentrationer, der er mindre end eller lig 40 % af middel, regnes for signifikant lavere end normalt, og skal derfor anses for værende abnorme. Prøver, der ved gentagen test fortsat er tvetydige (se nedenfor), kan også regnes som abnorme.

Tvetydige resultater: C1-INH-koncentrationer, der ligger inden for området 41-67 % af middel, der er lavere end forventet, er ikke signifikant lavere end normalt og regnes for tvetydige resultater. Disse prøver kan testes igen, eller nye prøver kan udtages og testes. Hvis en sådan prøve fortsat er tvetydig, skal prøven regnes for signifikant lavere end normalt og kan rapporteres som abnorm.

Normalresultater: Koncentrationer, der er større end eller lig 68 % af middelniveauet, regnes for normale.

PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

MicroVue C1-Inhibitor Plus enzym-immunoassay har været anvendt til at teste prøver, der er indsamlet som serum eller som plasma i EDTA. Der er ikke blevet testet andre antikoagulanter end EDTA.

FORVENTEDE VÆRDIER

100 normale serumprøver bestående af 49 fra børn og 51 fra voksne individer blev testet i MicroVue C1-Inhibitor enzym-immunoassayet. Der var ingen signifikante forskelle mellem prøverne fra børn og prøverne fra voksne. Gennemsnitskoncentrationen af C1-INH-protein i disse prøver blev defineret til at være 100 % af middelnormalen (standardafvigelse = 15,8 %).

EDTA-plasma- og serumprøver blev udtaget parvis fra 15 normale voksne individer og testet i assayet. Der var ingen signifikante forskelle mellem disse prøvetyper.

Prøver fra 28 forskellige patienter med dokumenteret C1-Inhibitor mangel blev testet i assayet. Disse prøver blev indsamlet fra forskellige klinikker fra forskellige geografiske områder i USA. Alle 28 patienter havde et signifikant lavere niveau af funktionelt C1-INH end middelnormalniveauet. Disse data er vist i Tabel 2.

Tabel 2
Patienter Med Quinckes Ødem

Patient-nr.	Sted	Procent af middelnormal (%)	Fortolkning
1P*	A	19	abnorm
1S*	A	37	abnorm
2**	A	0	abnorm
2**	A	6	abnorm
3	A	0	abnorm
4	A	17	abnorm
5	A	6	abnorm
6	A	0	abnorm
7	A	0	abnorm
8†	A	56	abnorm
9†	A	61	abnorm
10	B	8	abnorm
11	C	0	abnorm
12	D	28	abnorm
13	D	14	abnorm
14	D	32	abnorm
15	D	21	abnorm
16†	D	45	abnorm
17	D	3	abnorm
18	D	24	abnorm
19	E	0	abnorm
20	E	0	abnorm
21	E	2	abnorm
22	E	13	abnorm
23	E	17	abnorm
24	E	19	abnorm
25	E	4	abnorm
26	E	3	abnorm
27†	E	44	abnorm
28	E	0	abnorm

*1S er serum, og 1P er EDTA-plasma udtaget fra en patient på samme tid.

**De to prøver fra patient 2 blev taget med tre års mellemrum.

†Ved gentagelse blev prøver fra disse patienter påvist som tvetydige og derfor bedømt abnorme.

PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA

Nøjagtighed

Idet der anvendtes en lineær regressionsmodel, blev C1-Inhibitor koncentrationerne målt i EIA-assayet for 15 normale sera tildelt på grundlag af deres koncentrationer som bestemt ved en radial immunodiffusionsteknik. C1-INH-koncentrationen i den primære standard blev bestemt ud fra værditildelte kit-standarder baseret på den lineære regressionsmodel. Med det formål at teste modellens nøjagtighed blev der desuden foretaget seks bestemmelser af C1-INH-koncentrationen for den primære standard ved brug af den radiale immunodiffusionsteknik. Disse to metoder, der måler C1-INH-koncentrationer, var ikke signifikant forskellige. Den opnåede middelværdi for 100 normale serumprøver i MicroVue C1-Inhibitor enzym-immunoassayet var 182 µg/ml. Denne værdi stemmer godt overens med den publicerede normalkoncentration på 180 µg/ml.

Præcision

Der blev evalueret lots fra tre kits. Hvert lot blev testet tre gange af forskellige teknikerne. Prøverne blev testet tre gange hver over hver af de ni assaykørsler. Tabel 3 viser den intraassay- og interassay-variation, som dette resulterede i.

Tabel 3
Assayreproducerbarhed

Type	C1-Inhibitor (%)	Intra-assay CV ¹ (%)	Inter-assay CV ² (%)
Præparat 1	105,2	3,3	5,7
Præparat 2	78,54	4,0	5,7
Præparat 3	21,48	5,4	6,4
Præparat 4	16,42	5,1	10,0

¹n = 20 replikater ²n = 10 assayer

Specificitet

Det gede-antihuman C1-INH, der blev anvendt til fremstilling af konjugatet, blev sammenlignet med et andet kommercielt tilgængeligt og C1-INH-antistof, der er godkendt af den amerikanske lægemiddelstyrelse (FDA). I en immunodiffusionstest viste det en enkelt identitetslinje. Desuden blev Quidel-antiserum vurderet som værende monospecifikt for C1-INH, når det blev testet ved forskellige koncentrationer mod frisk udtaget, normalt, humant serum indeholdende 10 mM EDTA ved dobbelt immunodiffusion, en-dimensionel og to-dimensionel immunelektroforese samt ved raketimmunelektroforese.

ASSISTANCE

Henvendelser angående varebestilling eller teknisk service bedes rettet til en repræsentant for Quidel på tlf. +1 800.874.1517 (i USA), +1 858.552.1100 (uden for USA), mandag-fredag kl. 8.00-17.00 (EasternTime). Varebestillinger modtages også på fax til +1 740.952.9820.

For serviceydelser uden for USA bedes du kontakte din lokale forhandler. Yderligere information om Quidel, vores produkter og vores distributører findes på vores hjemmeside quidel.com.

REFERENCER

1. Ratnoff, O.D., J. Pinsky, D. Ogston y G.B. Naff. The inhibition of plasmin, plasma kallikrein, plasma permeability factor, and C'1r subcomponent of the first component of complement by serum C'1 esterase inhibitor. *J. Exp. Med.* 129:315, 1969.
2. Travis, J. y G.S. Salvesen. Human plasma proteinase inhibitors. *Ann. Rev. Biochem.* 52:655,1983.
3. Donaldson, V.H. y R.R. Evans. A biochemical abnormality in hereditary angioneurotic edema. Absence of serum inhibitor of C'1-esterase. *Am. J. Med.* 35:37, 1963.

4. Rosen, F.S., C.A. Alper, J. 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

PIA037004DA00 (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

Rx ONLY

Kun på recept



Konsultere brugsanvisningen e-mærkning af



Biologisk fare

IVD

Til *in vitro* diagnostisk anvendelse



Indeholder nok til 96 bestemmelser

CONT

Inghold/Indeholder

CONTROL

Prøve
