

Essai immunoenzymatique servant à mesurer la quantité de protéine fonctionnelle d'inhibiteur du C1 dans le plasma ou le serum humain

Destiné au diagnostic *in vitro*.

Un glossaire des symboles est disponible sur le site quidel.com/glossary.

RÉSUMÉ

Préparation du réactifs, des échantillons standard, des échantillons de contrôle et des échantillons à analyser

- Diluer la solution concentrée de tampon de lavage 1:20 avec de l'eau désionisée
- Diluer la solution concentrée de diluant pour échantillon 1:5 avec de l'eau désionisée
- Reconstituer chaque échantillon Standard et chaque échantillon de contrôle avec 1 ml de solution de réhydratation (*laisser reposer pendant 15 minutes, puis mélanger soigneusement*)
- Reconstituer chaque flacon de réactif à l'inhibiteur de C1 avec 0,5 ml de solution de réhydratation (*agiter délicatement et laisser reposer pendant 15 minutes*)
(1 flacon permettra de traiter environ 25 échantillons à analyser)
- Diluer les échantillons à 1: 101 avec du diluant pour échantillon 1X (ex. : 10 µl+ 1 mL)

Protocole de dosage

Ajouter **100 µl** de chacun des échantillons standard et de contrôle reconstitués et des échantillons dans des micro-tubes pré-étiquetés

Ajouter **20 µl** de réactif reconstitué dans chaque micro-tube, refermer les micro-tubes et centrifuger vigoureusement

Laisser Incuber pendant **30 ± 1 minutes** à une température comprise entre 15 et 30 °C

Pipeter **50 µl** de diluant à échantillon, d'échantillons standard Pré-traités, de solution de contrôle et d'échantillons à analyser dans les puits de dosage

Laisser Incuber pendant **10 ± 1 minutes** à une température comprise entre 15 et 30 °C

Laver à **5 fois** avec la solution tampon de lavage (Laisser incuber la première solution de lavage pendant 1 minute)

Pipeter **50 µl** de conjugué

Laisser Incuber pendant **60 ± 1 minutes** à une température comprise entre 15 et 30 °C

Laver à **5 fois** avec la solution tampon de lavage (Laisser incuber la première solution de lavage pendant 1 minute)

Pipeter **100 µl** de solution de substrat

Laisser Incuber pendant **15 ± 1 minutes** à une température comprise entre 15 et 30 °C

Pipette de **100 µl** de solution d'arrêt

Ure la densité optique à 450 nm
Analyser les résultats de l'essai en utilisant une courbe linéaire ($y = mx + b$)



APPLICATION

L'essai immunoenzymatique de dosage de l'enzyme inhibitrice du C1 MicroVue sert à mesurer la quantité de protéine fonctionnelle de l'inhibiteur du C1 dans le plasma ou le sérum humain.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

L'inhibiteur du C1 (C1-INH) est un inhibiteur de la protéase multispécifique normalement présent dans le plasma et le sérum humain. Il sert à réguler les enzymes des systèmes du complément, de la coagulation, fibrinolytique et de la formation de la kinine.¹ Les enzymes (protéases) régulés par cette protéine incluent le C1r et les C1s sous-unités du premier composant activé du complément, du facteur Hageman activé (facteur XIIa), de fragments du facteur Hageman, de l'antécédent de la thromboplastine plasmatique activé (PTA ou facteur XIa), de la kallitréine (facteur de Fletcher) et de la plasmine.²

Une carence en C1-INH fonctionnellement active peut entraîner un angio-œdème potentiellement mortel. Deux formes majeures de carence en C1-INH ont été signalées: la forme congénitale, appelée angio-œdème héréditaire (AOH)^{3,4} et la forme acquise, qui est associée à diverses maladies, dont les tumeurs malignes des tissus lymphoïdes.⁵ L'angio-œdème héréditaire se caractérise par des crises passagères mais récurrentes de gonflement sans prurit de divers tissus corporels. La symptomatologie dépend des organes impliqués. Les attaques intestinales entraînent divers symptômes et notamment des douleurs, des crampes, des vomissements et une diarrhée. La cause de décès la plus fréquente dans cette maladie est une obstruction des voies respiratoires secondaire à un œdème laryngé survenant lors d'une crise. Il existe deux types d'angio-œdèmes héréditaires que l'on peut distinguer par des moyens biochimiques. Les patients souffrant du type le plus courant (85% des patients atteints de AOH) présentent de faibles taux de C1-INH fonctionnel et de C1-INH antigénique. Les patients atteints de la deuxième forme (15% des patients atteints de HAE) présentent de faibles taux de C1-INH fonctionnel, mais des taux normaux ou supérieurs à la normale de C1-INH antigénique, ce qui est associé à une protéine défectueuse.⁶

La nature variable des symptômes à différents moments de la maladie empêche tout diagnostic définitif uniquement basé sur une observation clinique. Un angio-œdème héréditaire ou acquis ne peut être diagnostiqué définitivement qu'au moyen de tests en laboratoire démontrant une réduction marquée des taux de C1-INH fonctionnel dans le plasma ou le sérum du patient.

Plusieurs méthodes ont été signalées pour mesurer les taux de C1-INH fonctionnel ou antigénique. Ces méthodes incluent les épreuves d'inhibition enzymatique,^{7,8} l'immunodiffusion radiale,⁹ l'immunoélectrophorèse et l'inhibition de l'immunohémolyse.¹⁰ Chacune de ces méthodes présente des inconvénients. Les épreuves d'inhibition enzymatique⁷ sont difficiles à mettre en place et à réaliser sur une base routinière, les méthodes immunochimiques qui mesurent la quantité totale d'antigène ne peuvent distinguer la protéine fonctionnelle du C1-INH de la protéine non fonctionnelle, et la méthode d'immunodiffusion anti-C1r,⁹ qui a été développée pour mesurer l'activité du C1-INH fonctionnel, n'est pas quantitative. L'essai MicroVue est capable de mesurer quantitativement le taux de protéine du C1-INH fonctionnellement active présent dans le plasma ou le sérum d'un patient grâce à une procédure d'essai immunoenzymatique pratique, standardisée et reproductible.

PRINCIPE DU PROCÉDÉ

L'essai MicroVue C1-Inhibitor Plus Enzyme Immunoassay de dosage quantitatif de la protéine fonctionnelle de l'inhibiteur du C1 (un inhibiteur de la protéase) dans le sérum ou le plasma humain constitue une procédure en quatre étapes. Dans la première étape, les échantillons étalons, les échantillons de contrôle et les échantillons à analyser sont mis à incuber en présence d'un réactif au C1-INH (C1s biotinylé, activé). Pendant cette incubation, le C1-INH fonctionnellement actif présent dans les échantillons étalons, les échantillons de contrôle et les échantillons à analyser se lie au réactif à l'inhibiteur du C1 pour former des complexes.

Dans la deuxième étape, un aliquote des mélanges de l'incubation contenant du réactif à l'inhibiteur de la C1 est ajouté dans des puits de dosage préalablement enduits d'avidine. Réactif à l'inhibiteur du C1: les complexes de C1-INH présents dans les échantillons étalons, les échantillons de contrôle ou les échantillons à analyser se lient aux puits de dosage recouverts d'avidine. Après incubation, un lavage permet d'éliminer ce qui n'a pas été lié. Dans la troisième étape, un anticorps C1-INH de chèvre anti-humain conjugué à la peroxydase du raifort est ajouté dans chaque puits. Pendant cette étape, le conjugué HRP anti-C1-INH se lie au réactif au C1-INH: complexes de C1-INH capturés à la surface des puits recouverts d'avidine. Après incubation, un cycle de lavage élimine l'excédent de conjugué.

Dans la quatrième étape, un substrat enzymatique chromogène est ajouté dans chacun des puits. Le conjugué HRP lié réagit avec le substrat pour former une couleur bleue. Après incubation, la réaction enzymatique est stoppée chimiquement, la couleur vire au jaune et l'intensité de la couleur est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 450 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de protéine fonctionnelle du C1-INH présente dans les échantillons à analyser, dans les échantillons étalons et dans les échantillons de contrôle.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS

Le kit de dosage immunoenzymatique de l'inhibiteur du C1 contient:

A	Échantillons Standard de C1-INH (lyophilisés) Une fois reconstitué, chacun contient une quantité connue de C1-INH dans le plasma humain, un tampon PBS, des conservateurs	Réf. A4469-A4473	2 pc x 1 ml
L	Échantillon de contrôle pour taux de C1-INH anormal (humain) (lyophilisé) Une fois reconstitués, chacun contient du plasma humain contenant un faible taux de C1-INH dans un tampon PBS, des conservateurs	Réf. A9524	2 x 1 ml
N	Échantillon de contrôle du C1-INH (humain) Normal (lyophilisé) Une fois reconstitués, chacun contient du plasma humain présentant un taux normal de C1-INH dans un tampon PBS, des conservateurs	Réf. A9523	2 x 1 ml
1	Micro-plaque de dosage Huit barrettes de puits revêtues d'avidine dans une poche en aluminium rescellable	Réf. 4634	1 pc
2	Solution d'arrêt Contient de l'acide chlorhydrique 1N (4%)	Réf. A9947	12 ml
3	Solution concentrée 20X Wash Une fois diluée, chacune contient un tampon phosphate salin (PBS), 0,05% de Tween-20® et 0,035% de ProClin® 300	Réf. A9957	2 x 50 ml
4	Diluant concentré pour échantillon 5X Une fois diluée, contient un tampon PBS, des conservateurs et 0,035% de ProClin 300	Réf. A9519	25 ml
5	Substrat TMB Prêt à l'emploi. Contient du tétraméthylbenzidine (TMB) et du peroxyde d'hydrogène	Réf. 5059	12 ml
6	Réactif au C1-INH Une fois reconstitué, contient du C1s biotinylé (conjugué à la biotine), activé dans un tampon PBS avec conservateurs	Réf. A9527	5 x 0,5 ml
7	Conjugué du C1-INH Contient un anticorps C1-INH (chèvre) anti-humain conjugué à la peroxydase dans un tampon PBS, des conservateurs	Réf. A9525	7 ml

Tween® 20 est une marque déposée de la société ICI Americas Inc.
ProClin® est une marque déposée de la société Rohm and Haas Company.

MATÉRIEL NÉCESSAIRES NON FOURNI

- Minuteur (60 minutes)
- Calculatrice ou autre méthode de calcul pour valider le dosage
- Microplaques de dosage à usage unique et/ou tubes à essai et portoirs
- Récipient pour la dilution de la solution tampon de lavage
- Bouteille de lavage ou tout autre équipement de lavage homologué
- Multipipette ajustable (8 ou 12 canaux) ou pipeteur automatique (facultatif)
- Pipettes propres de 1 ml, 5 ml et 10 ml
- Micropipettes et embouts
- Lecteur de plaques pouvant effectuer des lectures de densité optique à A_{450} comprises entre 0,0 et 3,0
- Eau désionisée ou distillée

AVERTISSEMENTS

- Destiné au diagnostic *in vitro*.
- Suivre les précautions standards lors de la manipulation de cette trousse et des échantillons de patients.
- Éliminer les réactifs non utilisés et leurs flacons conformément à la réglementation en vigueur.
- Utiliser ensemble tous les réactifs avant la date d'expiration indiquée sur l'étiquette de la boîte.
- Porter des vêtements, des gants, un masque et des lunettes de protection lors de la manipulation de cette trousse.
- Suivre les recommandations pour la conservation des réactifs.
- Lors de l'ajout ou de l'aspiration de liquides dans les puits de dosage, ne pas racler ou toucher le fond des puits.
- Toute modification du temps ou de la température d'incubation indiqués dans le protocole de dosage peut entraîner des résultats erronés.
- Ne pas laisser les puits sécher pendant le dosage.
- Ne pas utiliser les puits plusieurs fois.
- L'utilisation de multipipettes ou de pipeteurs automatiques est recommandée pour limiter le temps de distribution des réactifs.
- Pour obtenir une mesure précise des échantillons, pipeter avec précautions les échantillons et les standards Pipeter soigneusement en utilisant du matériel correctement étalonné.
- Pour obtenir des résultats précis, il est indispensable de recueillir et de conserver correctement les échantillons.
- Éviter toute contamination microbienne ou contamination croisée des échantillons, des réactifs ou du matériel. Une contamination risque de fausser les résultats.
- La solution d'arrêt est une solution corrosive susceptible de provoquer des irritations. Ne pas ingérer. Éviter tout contact avec les yeux, la peau et les vêtements. En cas de contact, rincer immédiatement la zone exposée à l'eau. En cas d'ingestion, appeler un médecin.
- Le ProClin 300 est un conservateur. Un contact accidentel avec ou l'ingestion de tampons ou de réactifs contenant du ProClin peut entraîner une irritation de la peau, des yeux ou de la bouche. Suivre les bonnes pratiques de laboratoire pour réduire l'exposition. Consulter un médecin si des symptômes apparaissent.
- Le substrat TMB doit être protégé de la lumière durant le stockage et l'incubation. Éviter tout contact avec les yeux, la peau et les vêtements. En cas de contact, rincer immédiatement la zone exposée à l'eau.
- Pour éviter la formation d'aérosol pendant le lavage, aspirer le liquide de lavage dans une bouteille contenant de l'eau de Javel.

- Les échantillons inactivés par traitement thermique, hyperlipémiques ou contaminés peuvent donner des résultats erronés.
- Lavez-vous soigneusement les mains après manipulation.
- Pour en savoir plus sur les symboles de danger, la sécurité, la manipulation et l'élimination des composants de ce kit, veuillez vous référer à la Fiche de données de sécurité (FDS) que vous trouverez sur quidel.com.

CONSERVATION

Conserver les trousse non ouvertes à une température comprise entre 2°C et 8°C. Une fois la trousse ouverte, la solution concentrée de lavage 20X et la solution de réhydratation peuvent être conservées à une température comprise entre 2°C et 30°C.

Après avoir choisi les réactifs ou le matériel à utiliser, remettre immédiatement les réactifs non utilisés à la température de stockage adéquate. Amener tous les réactifs et le matériel à température ambiante (15°C à 30°C) avant utilisation.

SIGNES D'INSTABILITÉ ET DE DÉTÉRIORATION DES RÉACTIFS

Le fait que la solution de lavage diluée soit trouble ou décolorée indique une détérioration de ce réactif. Si cela se produit, la solution doit être jetée.

PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Manipuler et éliminer les échantillons en appliquant les précautions standards.

Le dosage nécessite au moins 10 µl de sérum ou de plasma prélevé sur EDTA. Tous les échantillons doivent être prélevés sous asepsie et préparés en utilisant les techniques standards applicables aux analyses de laboratoire. Il est préférable d'utiliser un échantillon frais non hémolysé. Un échantillon de plasma prélevé sur EDTA peut être conservé à température ambiante (15°C à 30°C) pendant 24 heures maximum. Les échantillons de plasma ne doivent pas être conservés à température ambiante pendant plus de six heures. Si l'on prévoit un stockage prolongé, il convient de congeler les échantillons de plasma ou de sérum (-20°C ou inf.). Éviter de congeler/décongeler plusieurs fois l'échantillon. Les particules doivent être éliminées de l'échantillon par centrifugation lente avant l'essai.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Laisser tous les réactifs revenir à température ambiante (15°C à 30°C) avant utilisation. Après utilisation, remettre la trousse au réfrigérateur (2°C à 8°C). Après avoir prélevé les réactifs et le matériel nécessaires, remettre les différents constituants et réactifs inutilisés à la température de stockage requise (cf. *CONSERVATION*). Se référer au tableau pour connaître les quantités de réactif et de matériel requises.

1. Solution de lavage

Mélanger la solution concentrée de lavage 20X en retournant plusieurs fois la bouteille. Si la solution concentrée de lavage 20X a été stockée à une température comprise entre 2°C à 8°C, il est possible que des cristaux se soient formés. Pour dissoudre les cristaux, réchauffer la bouteille dans un bain d'eau à 37°C à 50°C jusqu'à ce que tous les cristaux soient dissouts. Bien mélanger. Préparer la solution de lavage qui sera utilisée pour laver les puits en diluant le contenu d'un des flacons de solution de lavage concentrée 20X dans de l'eau distillée ou désionisée, afin d'obtenir un volume final de 1 litre. Bien mélanger. La solution de lavage est stable pendant 30 jours lorsqu'elle est conservée dans un récipient propre à une température comprise entre 2°C et 8°C. Si le réactif se décolore ou devient trouble, le jeter.

2. Choix des barrettes de dosage

Déterminer le nombre d'échantillons à analyser et ajouter quinze (15) puits pour les cinq échantillons standard, les échantillons de contrôle normaux anormaux (en double) et un puits vide. Il est recommandé que les échantillons étalons et de contrôle dupliqués soient testés dans des barrettes séparées, dans la mesure du possible. En fonction du nombre de puits requis, prélever le nombre de barrettes souhaité. Fixer les barrettes choisies pour être utilisées sur la plaque de dosage. Remettre les barrettes inutiles dans le sachet de stockage, refermer ce dernier et stocker le tout à une température comprise entre 2°C et 8°C.

3. Reconstitution des échantillons standard, des échantillons de contrôle et du réactif au C1-INH

Ajouter 1 ml de solution de réhydratation dans chaque flacon d'échantillon standard (A-E) et dans chaque échantillon de contrôle. Ajouter 0,5 ml de solution de réhydratation dans chacun des flacons de réactif au C1-INH requis. (Un flacon permettra de traiter environ 25 échantillons.) Laisser les flacons reconstitués se réhydrater pendant au moins 15 minutes à une température comprise entre 15°C et 30°C, puis mélanger vigoureusement. Éviter la formation de mousse ou de bulles lors du mélange. Les échantillons standard et les échantillons de contrôle reconstitués sont stables pendant 30 jours s'ils sont stockés à une température comprise entre 2°C et 8°C. **REMARQUE: aucune dilution supplémentaire des échantillons standard et de contrôle reconstitués n'est nécessaire avant de procéder au dosage.** Quatre (4) flacons de réactif au C1-INH étant fournis, l'utilisateur est en mesure de réaliser jusqu'à quatre (4) dosages différents avec le matériel fourni dans la trousse. **Le réactif au C1-INH reconstitué est stable pendant vingt-quatre (24) heures à une température comprise entre 2°C et 8°C et pendant deux (2) heures à une température comprise entre 15°C à 30°C.**

4. Préparation du diluant pour échantillon 1X

Pour déterminer la quantité requise de diluant pour échantillon 1X, se référer au Tableau 1. Préparer la quantité requise de diluant pour échantillon 1X en mélangeant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué et le diluant concentré pour échantillon 5X.

Tableau 1
Diluant Pour Échantillon 1X (Consignes et Préparation)

Nb de barrettes	Diluant pour échantillon 1X requis (ml)	Volume de réactifs requis	
		Eau (ml)	Diluant pour échantillon 5X (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. Dilution des échantillon

Déterminer le nombre (N) d'échantillons à analyser. Étiqueter les tubes à essai n° 1 à N et noter à quel échantillon correspond chaque tube. Préparer 1 ml d'une dilution à 1:101 (10 µl d'échantillon dans 1 ml de diluant pour échantillon 1X) de chaque échantillon à l'aide de diluant pour échantillon 1X. Mélanger vigoureusement en veillant à éviter la formation de mousse et de bulles. Ne pas stocker ou réutiliser des échantillons dilués.

PROCÉDE DE L' ESSAI

Lire l'intégralité de la notice du produit avant de procéder au dosage.

Lire la section PRÉPARATION DES RÉACTIFS avant de continuer.

1. Noter les positions des puits correspondant à tous les échantillons à analyser, aux échantillons standard et aux échantillons de contrôle, ainsi que les numéros de lot indiqués sur l'étiquette des flacons. Repérer un coin de la plaque.
2. Traitement des échantillons standard, des échantillons de contrôle et des échantillons à analyser avec le réactif au C1-INH:
 - a. Ajouter 100 µl de chaque échantillons standard de C1-INH reconstitué (A, B, C, D, E) dans les micro-tubes pré-étiquetés.
 - b. Ajouter 100 µl d'échantillon de contrôle du C1-INH anormal et 100 µl d'échantillon de contrôle du C1-INH normal dans les micro-tubes pré-étiquetés.
 - c. Ajouter 100 µl de la dilution à 1:101 de chaque échantillon du patient (cf. *Dilution des échantillons*, point 5 dans la section *PRÉPARATION DES RÉACTIFS*) dans un micro-tube pré-étiqueté.
 - d. Ajouter 20 µl de réactif au C1-INH fraîchement reconstitué dans les micro-tubes contenant les échantillons standard, les échantillons de contrôle et les échantillons à analyser dilués. Vortex vigoureusement chaque micro-tube.
 - e. Laisser incuber les micro-tubes à une température comprise entre 15°C et 30°C pendant 30±1 minutes.
3. Selon les exigences du lecteur de plaque, choisir un ou plusieurs puits qui serviront de témoin, puis ajouter 50 µl de diluant pour échantillon 1X dans les puits.
4. Ajouter 50 µl de chaque échantillon standard et de contrôle traité au réactif au C1-INH (étape 2) à dupliquer dans le puits de dosage qui lui a été assigné. Ajouter 50 µl de chacun des échantillons traités au réactif au C1-INH (étape 2) dans le puits de dosage qui lui a été assigné.
5. Laisser incuber à 15°C à 30°C pendant 10 ± 1 minutes.
6. Laver les puits de dosage en procédant comme suit:

REMARQUE: le lavage des puits de dosage est une étape critique. Suivre soigneusement les instructions relatives à la procédure de lavage.

 - a. Au terme de la période d'incubation de l'étape 5 (ou de l'étape 8 ci-dessous), vider le contenu de chaque puits.
 - b. Remplir tous les puits de solution de lavage (environ 300 µl) à l'aide d'une bouteille de lavage ou de tout autre dispositif de remplissage.
 - c. Laisser les puits incuber pendant 1 minute à une température comprise entre 15°C et 30°C.
 - d. Vider le contenu de chaque puits.
 - e. Remplir tous les puits de solution de lavage (environ 300 µl).
 - f. Vider le contenu de chaque puits.
 - g. Répéter les étapes e et f trois fois de plus.**
 - h. Après le cinquième cycle de lavage, retourner la plaque et la tapoter deux fois sur le papier absorbant pour éliminer tout excédent de liquide. **Ne pas laisser les puits sécher.**
7. À l'aide d'une multipipette ou d'un pipeteur automatique, injecter 50 µl de conjugué de C1-INH dans chaque puits lavé, y compris dans le puits témoin.
8. Laisser incuber les barrettes de dosage à une température comprise entre 15°C et 30°C pendant 60 ± 1 minutes.
9. Laver les puits de dosage après la période d'incubation de 60 minutes (étape 8), en procédant tel qu'indiqué dans la section *PROCÉDURE DE DOSAGE*.
10. Immédiatement après la procédure de lavage, injecter 100 µl de solution de substrat TMB dans chaque puits, y compris dans le puits vide.
11. Laisser incuber les barrettes de dosage à une température comprise entre 15°C et 30°C pendant 15 minutes.
12. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits afin de stopper la réaction enzymatique. La solution d'arrêt doit être ajoutée dans les puits dans le même ordre et au même débit que la solution

de substrat. Tapoter doucement la plaque pour permettre un développement uniforme de la coloration.

13. Lire l'absorption à 450 nm (valeur A_{450}) pour chaque puits dans l'heure qui suit l'ajout de la solution d'arrêt (étape 12), en faisant une correction pour les blancs selon le système spectrophotométrique utilisé.
14. Éliminer le reste des échantillons dilués, des échantillons de contrôle, du substrat, du conjugué, du réactif au C1-INH, ainsi que les barrettes de dosage utilisées (cf. *MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS*). Conserver le porte-barrette et le dispositif de retenue pour une prochaine utilisation.

CONTRÔLE QUALITÉ

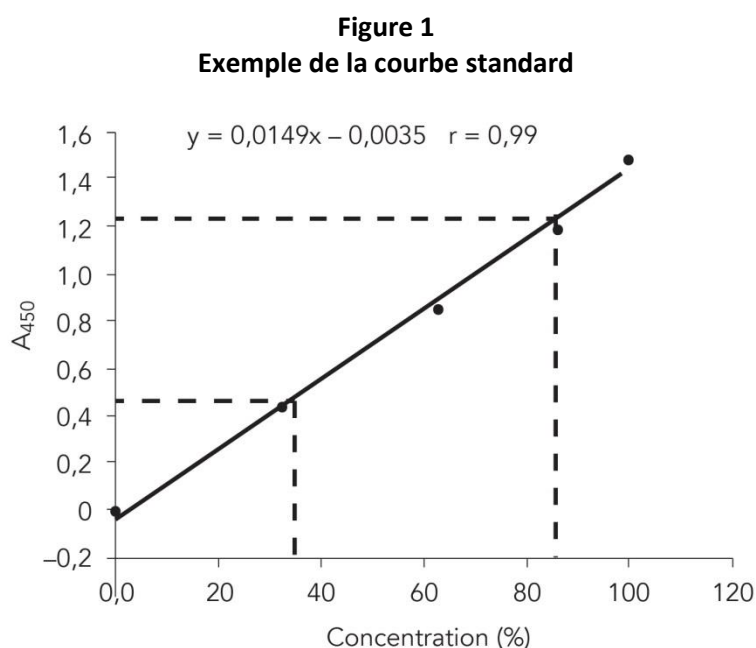
Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation des contrôles pour s'assurer que le test fonctionne correctement. Chaque kit de C1-inhibiteur Plus contient des contrôles normaux et anormaux qui peuvent être utilisés aux fins indiquées. Ces contrôles doivent être testés au moins une fois pour chaque lot d'échantillons, c'est-à-dire pour chaque série distincte. Les contrôles, lorsqu'ils sont utilisés conformément aux instructions, doivent donner un pourcentage de valeurs moyennes normales dans les plages spécifiées sur le certificat d'analyse. Étant donné que ces contrôles doivent être traités par le réactif et testés exactement comme un échantillon typique, ils servent de contrôles pour chaque série de C1-inhibiteur Plus. Des contrôles externes, préparés par votre laboratoire, peuvent également être utilisés pour s'assurer que le test fonctionne correctement.

En outre, la notice du produit exige que la courbe standard générée avec les échantillons étalons A-E de la trousse soit conforme à des critères de validation très stricts (cf. *Interprétation des résultats*). Les échantillons étalons doivent être testés en double à chaque dosage. Si le dosage ne satisfait pas à ces exigences, recommencer le dosage ou contacter l'Assistance technique de Quidel.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Calcul des résultats

La courbe standard se trace en plaçant sur l'axe des ordonnées les valeurs A_{450} de chaque échantillon standard (dont la valeur du blanc aura été préalablement soustraite) et sur l'axe des abscisses la concentration correspondante. La courbe standard doit satisfaire aux exigences de validation. La plupart des ordinateurs et des calculatrices sont capables de réaliser ce calcul. Un exemple de courbe standard typique est fourni dans la Figure 1.



La concentration en% de chaque échantillon est calculée à partir de la courbe standard en utilisant une analyse de régression linéaire.

Validation

Déterminer la pente, le point d'intersection et le coefficient de corrélation de la droite de meilleur ajustement dérivée. Les valeurs doivent se situer dans les plages suivantes pour qualifier l'essai:

coefficient de corrélation (r):	Supérieur à que 0,95
Pente (m):	0,0107 à 0,0262
interception y (b):	(-)0,1685 à 0,0910

Interprétation

La concentration en C1-INH fonctionnelle dans un échantillon donné est indiquée en pourcentage du taux moyen dans des échantillons normaux. Des échantillons prélevés sur 100 patients normaux et analysés par chacun des trois techniciens ont été utilisés pour déterminer un taux normal moyen de C1-INH fonctionnelle à l'aide de cet essai (cf. *CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES, Exactitude*). Le pourcentage du taux normal moyen d'un échantillon à analyser donné dilué à 1:101 est déterminé tel que spécifié dans la section *Calcul des résultats*.

Résultats anormaux: Les taux de C1-INH inférieurs ou égaux à 40% du taux normal moyen sont considérés comme fortement inférieurs à la normale et doivent donc être considérés comme anormaux. Les échantillons soumis à des tests répétés dont le résultat reste équivoque (cf. ci-dessous) peuvent également être considérés comme anormaux.

Résultats équivoques: Les taux de C1-INH se situant entre 41 et 67% du taux normal moyen, bien qu'inférieurs à la normale, ne sont pas très inférieurs à la normale et sont donc considérés comme des résultats équivoques. Ces échantillons peuvent être testés plusieurs fois. Il est également possible de prélever et de tester un nouvel échantillon. Si un échantillon ne cesse d'obtenir des résultats équivoques, il doit être considéré comme significativement inférieur à la normale et doit être signalé comme anormal.

Résultats normaux: Les concentrations supérieures ou égales à 68% du taux normal moyen sont considérées comme normales.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

L'essai immunoenzymatique de dosage du C1-INH Plus MicroVue a été utilisé pour tester des échantillons de sérum ou de plasma prélevé sur EDTA. Aucun autre anticoagulant que l'EDTA n'a été testé.

VALEURS ATTENDUES

Cent (100) échantillons de sérum normaux prélevés sur quarante-neuf (49) patients pédiatriques et cinquante-et-un (51) patients adultes ont été testés à l'aide de l'essai immunoenzymatique de dosage du C1-INH MicroVue. Aucune différence significative n'a été constatée entre les échantillons adultes et les échantillons pédiatriques. La concentration moyenne en protéine du C1-INH dans ces échantillons était de 100% du taux normal moyen (écart-type = 15,8%).

Des paires d'échantillons de plasma prélevé sur EDTA et de sérum ont été prélevés sur quinze (15) patients adultes sains et analysés durant l'essai. Aucune différence significative entre ces types d'échantillons n'a été constatée.

Des échantillons prélevés sur vingt-huit (28) patients différents présentant une carence avérée en C1-INH ont été analysés durant l'essai.

Ces échantillons ont été prélevés dans plusieurs établissements situés dans des zones géographiques différentes des États-Unis. Les vingt-deux patients testés présentaient des taux de C1-INH fonctionnel inférieurs à la normale. Ces données sont présentées dans le Tableau 2.

Tableau 2
Patients Atteints D'un Angio-œdème

N° de patient	Site	Pourcentage du taux normal moyen (%)	Interprétation
1P*	A	19	anormal
1S*	A	37	anormal
2**	A	0	anormal
2**	A	6	anormal
3	A	0	anormal
4	A	17	anormal
5	A	6	anormal
6	A	0	anormal
7	A	0	anormal
8†	A	56	anormal
9†	A	61	anormal
10	B	8	anormal
11	C	0	anormal
12	D	28	anormal
13	D	14	anormal
14	D	32	anormal
15	D	21	anormal
16†	D	45	anormal
17	D	3	anormal
18	D	24	anormal
19	E	0	anormal
20	E	0	anormal
21	E	2	anormal
22	E	13	anormal
23	E	17	anormal
24	E	19	anormal
25	E	4	anormal
26	E	3	anormal
27†	E	44	anormal
28	E	0	anormal

*1S es el suero y 1P el plasma EDTA, extraídos de un paciente en el mismo momento

**Las dos muestras del paciente 2 se obtuvieron con tres años de diferencia.

†Al repetir el ensayo, las muestras analizadas de estos pacientes dieron resultados equívocos y, por lo tanto, se clasificaron como resultados anormales.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Exactitude

En utilisant le modèle de régression linéaire, les concentrations en C1-INH mesurées à l'aide de l'essai immunoenzymatique pour quinze échantillons de sérum normaux ont été assignées en fonction de leurs concentrations déterminées par la technique d'immunodiffusion radiale. La concentration en C1-INH dans l'échantillon étalon principal a été déterminée en utilisant les étalons standards de la trousse basés sur le modèle de régression linéaire. Pour tester la précision du modèle, six dosages du C1-INH par immunodiffusion radiale ont également été réalisés pour l'étalon principal. Ces deux méthodes de mesure du taux de C1-INH ne présentaient pas de différences significatives. La valeur moyenne obtenue pour 100 échantillons de sérum normal analysés à l'aide de l'essai immunoenzymatique de dosage du C1-INH MicroVue était de 182 µg/ml. Cette valeur est conforme au taux normal publié de 180 µg/ml.

Précision

Trois lots de trousse ont été évalués. Chaque lot a été testé trois fois par un technicien différent. Les échantillons ont été testés en triplicata lors de chacun des neufs dosages. Le Tableau 3 présente les variations intradosage et interdosage correspondantes.

Tableau 3
Reproductibilité Du Dosage

Type	C1-INH (%)	Variation intradosage ¹ (%)	Variation interdosage ² (%)
Échantillon 1	105,2	3,3	5,7
Échantillon 2	78,54	4,0	5,7
Échantillon 3	21,48	5,4	6,4
Échantillon 4	16,42	5,1	10,0

¹n=20 répliqués ²n=10 dosages

Spécificité

L'anticorps C1-INH de chèvre anti-humain, utilisé pour fabriquer le conjugué a été comparé à un autre anticorps du C1-INH validé par la FDA et disponible dans le commerce. Il s'est révélé constituer une ligne d'identité unique lors d'une épreuve par immunodiffusion. De plus, l'antisérum Quidel a été jugé monospécifique pour le C1-INH lorsqu'il a été testé à différentes concentrations et comparé à un sérum humain normal frais contenant 10 mM d'EDTA par double immunodiffusion, par immunoélectrophorèse uni- et bi-dimensionnelle et par immunoélectrophorèse en fusée.

ASSISTANCE

Pour passer une commande ou pour toute demande d'assistance technique, veuillez contacter un conseiller Quidel au 800.874.1517 (aux États-Unis) ou au 858.552.1100 (à l'extérieur des États-Unis), du lundi au vendredi, de 8:00 à 17:00, heure de l'Est. Les commandes peuvent être passées par fax au 740.592.9820.

Pour toute commande ou question technique, contacter le distributeur local. D'autres informations concernant Quidel, nos produits et nos distributeurs sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse quidel.com.

RÉFÉRENCES

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. Pinsky, 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

PIA037004FR00 (09/21)

GLOSSAIRE

REF

Référence catalogue



Conformité Européenne

EC REP

Représentant autorisé dans
la Communauté Européenne

LOT

Référence du lot



Date d'expiration



Fabricant



Conditions de stockage



Utilisation prévue

Rx ONLY

Sur prescription médicale uniquement



Consulter les instructions
électroniques



Risques biologiques

IVD

Pour utilisation *in vitro*



Contenu suffisant pour 96 déterminations

CONT

Contenu

CONTROL

Contrôle
