

**Un dosaggio immunoenzimatico che consente di misurare la quantità di proteina funzionale C1-inibitore nel plasma o nel siero umani**

Per l'uso diagnostico *in vitro*.

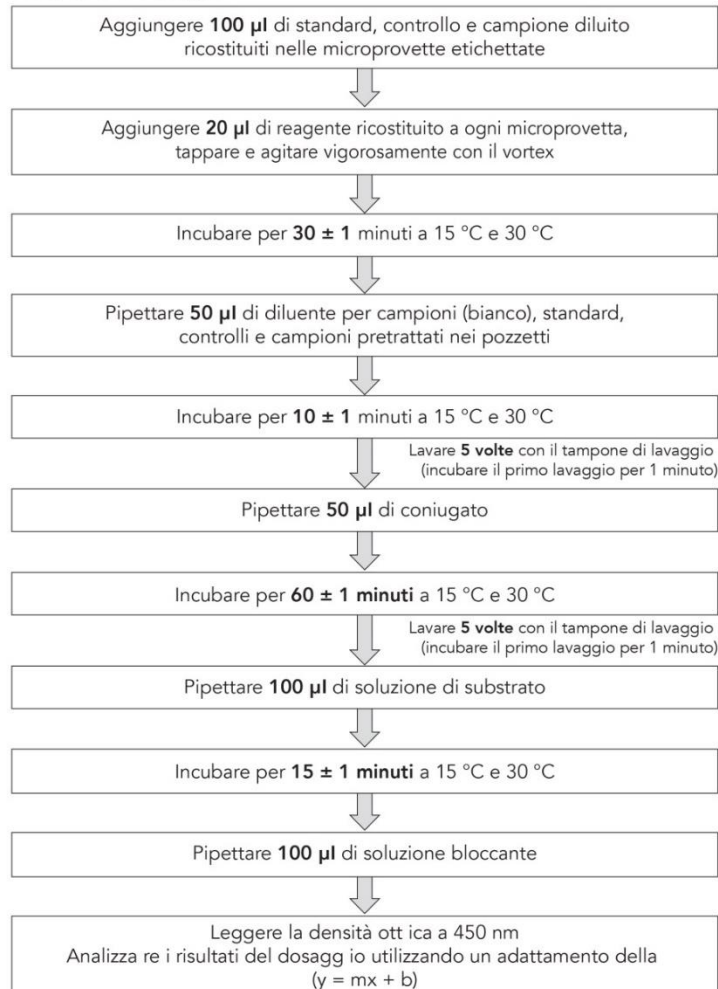
È possibile consultare un glossario dei simboli all'indirizzo [quidel.com/glossary](http://quidel.com/glossary).

## RIEPILOGO

### Preparazione di reagenti , standard, controlli e campioni

- Diluire il tampone di lavaggio concentrato 1:20 con acqua deionizzata
- Diluire il diluente per campioni concentrato 1:5 con acqua deionizzata
- Ricostituire gli standard e i controlli con 1,0 ml di reagente idratante (lasciare riposare 15 minuti, quindi miscelare con cura)
- Ricostituire il reagente C1 -inibitore con 0,5 ml di reagente idratante (miscelare delicatamente e lasciare riposare 15 minuti ; 1 provetta permetterà di trattare circa 25 campioni di test)
- Diluire i campioni 1:101 con il diluente per campioni 1X (ad esempio 10 µl+ 1 ml)

### Procedura di dosaggio





## FINALITA D'USO

Il dosaggio immunoenzimatico del C1-inibitore di MicroVue consente di misurare la quantità di proteina funzionale C1-inibitore nel plasma o nel siero umani.

## SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il C1-inibitore (C1-INH) è un inibitore di proteasi multispecifico, presente nel plasma e nel siero umani, che consente di regolare gli enzimi dei sistemi di formazione della chinina, di complemento, coagulazione e fibrinolitici<sup>1</sup>. Gli enzimi (proteasi) regolati da questa proteina comprendono le subunità C1r e C1s del primo componente attivato di complemento, il fattore Hageman attivato (fattore XIIa), frammenti del fattore Hageman, il precursore della tromboplastina plasmatica attivato (PTA o fattore XIa), la callicreina (fattore di Fletcher) e la plasmina.<sup>2</sup>

La carenza di C1-INH attivo e funzionale può portare a un angioedema che costituisce una minaccia per la vita. Sono state riscontrate due forme principali di carenza di C1-INH: la forma congenita, detta angioedema ereditario (HAE)<sup>3,4</sup>, e la forma acquisita, associata a numerose patologie, tra cui le forme maligne dei linfoidi<sup>5</sup>. L'angioedema ereditario è caratterizzato da attacchi transitori ma ricorrenti di rigonfiamento non pruriginoso di numerosi tessuti in tutto il corpo. La sintomatologia dipende dagli organi interessati. Gli attacchi intestinali provocano diversi sintomi, compresi dolore, crampi, vomito e diarrea. La causa più frequente di morte relativa a questa patologia consiste nell'ostruzione delle vie respiratorie causata dall'edema laringeo che si verifica durante un attacco. Vi sono due tipi di angioedema ereditario che possono essere distinti a livello biochimico. I pazienti affetti dal tipo più comune (85% dei pazienti affetti da HAE) hanno bassi livelli di C1-INH funzionale e di antigene C1-INH. I pazienti affetti dalla seconda forma (15% dei pazienti affetti da HAE) hanno bassi livelli di C1-INH funzionale ma livelli normali o elevati dell'antigene C1-INH, che è associato a una proteina disfunzionale<sup>6</sup>.

La natura variabile dei sintomi in diversi periodi di tempo durante il corso della malattia preclude una diagnosi definitiva basata unicamente sull'osservazione clinica. L'angioedema ereditario o acquisito può essere diagnosticato definitivamente solo tramite test di laboratorio che dimostrino una riduzione marcata dei livelli di C1-INH funzionale nel plasma o nel siero di un paziente.

Sono stati segnalati numerosi metodi per misurare i livelli antigenici o funzionali di C1-INH. Questi metodi comprendono i dosaggi di inibizione dell'enzima<sup>7,8</sup>, l'immunodiffusione radiale<sup>9</sup>, l'immunolettroforesi e l'inibizione all'emolisi immunitaria<sup>10</sup>. Ciascuno di questi metodi presenta degli svantaggi. I dosaggi di inibizione dell'enzima<sup>7</sup> sono difficili da definire e condurre su base periodica, i metodi immunochimici che misurano l'antigene totale non consentono di distinguere tra le proteine C1-INH funzionali e non funzionali, mentre il metodo di immunodiffusione anti-C1r<sup>9</sup>, che è stato sviluppato per misurare l'attività funzionale di C1-INH, non è quantitativo. Il dosaggio MicroVue è in grado di misurare quantitativamente il livello di funzionalità della proteina C1-INH attiva presente nel plasma o nel siero di un paziente, utilizzando una comoda procedura EIA standardizzata e riproducibile.

## PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il dosaggio immunoenzimatico del C1-inibitore Plus di MicroVue per la quantificazione della proteina funzionale C1-inibitore (un inibitore della proteasi) nel siero o nel plasma umano è una procedura in quattro fasi. Nella prima fase, gli standard, i campioni di controllo e i campioni del test sono incubati con il reagente C1-inibitore (C1s attivato, biotinilato). Durante questa fase di incubazione, il C1-INH funzionalmente attivo presente negli standard, nei controlli e nei campioni di test si legherà al reagente C1-inibitore allo scopo di formare dei complessi.

Nella seconda fase un'aliquota delle miscele di incubazione contenenti il reagente C1-inibitore viene aggiunta ai pozzetti per la microtitolazione precoattati con avidina. Reagente C1-inibitore: i complessi di

C1-INH presenti negli standard, nei controlli o nei campioni si legheranno ai pozzetti per microdosaggio coattati con avidina. Dopo l'incubazione, un ciclo di lavaggio rimuove il materiale non legato.

Nella terza fase a ciascun pozzetto di test viene aggiunto il C1-INH anti-umano di capra coniugato con perossidasi di rafano (HRP). In questa fase, l'anti-C1-INH coniugato con perossidasi di rafano si lega al reagente C1-inibitore, ovvero ai complessi C1-INH catturati sulla superficie dei pozzetti per microdosaggio coattati con avidina. Dopo l'incubazione, un ciclo di lavaggio rimuove il coniugato in eccesso.

Nella quarta fase, ad ogni pozzetto del microdosaggio viene aggiunto un substrato enzimatico cromogenico. Il coniugato legato a HRP reagisce con il substrato, formando un colore blu. Dopo l'incubazione la reazione enzimatica viene interrotta chimicamente, il colore si trasforma in giallo e l'intensità del colore viene misurata per via spettrofotometrica a 450 nm. L'intensità del colore della miscela di reazione è proporzionale alla concentrazione della proteina funzionale C1-INH presente nei campioni, negli standard e nei controlli.

## REAGENTI E MATERIALI FORNITI

Il dosaggio immunoenzimatico del C1-inibitore contiene quanto segue:

<b>A</b>	<b>Standard C1-INH</b>	<b>Codici A4469-A4473</b>	<b>Conf. da 2 x 1 ml</b>
	(liofilizzato) Una volta ricostituito, ciascuno contiene una quantità nota di C1-inibitore in plasma umano, PBS (soluzione salina tamponata con fosfato), stabilizzatori		
<b>L</b>	<b>Controllo anomalo C1-INH (umano)</b>	<b>Codice A9524</b>	<b>2 x 1 ml</b>
	(liofilizzato) Una volta ricostituito, ciascuno contiene plasma umano con un livello basso di C1-inibitore in PBS e stabilizzatori		
<b>N</b>	<b>Controllo normale C1-INH (umano)</b>	<b>Codice A9523</b>	<b>2 x 1 ml</b>
	(liofilizzato) Una volta ricostituito, ciascuno contiene plasma umano con un livello normale di C1-inibitore in PBS e stabilizzatori		
<b>1</b>	<b>Piastra per microdosaggio</b>	<b>Codice 4634</b>	<b>Conf. da 1</b>
	Strisce di otto pozzetti coattate con avidina in una confezione risigillabile		
<b>2</b>	<b>Soluzione bloccante</b>	<b>Codice A9947</b>	<b>12 ml</b>
	Contiene acido cloridrico 1N (4%)		
<b>3</b>	<b>Soluzione di lavaggio concentrata 20x</b>	<b>Codice A9957</b>	<b>2 x 50 ml</b>
	Una volta diluita, ciascun flacone contiene soluzione salina tamponata con fosfato (PBS), Tween-20® 0,05% e Proclin® 300 0,035%		
<b>4</b>	<b>Diluyente per campioni concentrato 5X</b>	<b>Codice A9519</b>	<b>25 ml</b>
	Una volta diluito, contiene PBS, stabilizzatori e Proclin® 300 0,035%		
<b>5</b>	<b>Substrato TMB</b>	<b>Codice 5059</b>	<b>12 ml</b>
	Pronto all'uso. Contiene tetrametilbenzidina (TMB) e perossido di idrogeno		
<b>6</b>	<b>Reagente C1-inibitore</b>	<b>Codice A9527</b>	<b>5 x 0,5 ml</b>
	Una volta ricostituito, ciascuno contiene biotilinato (coniugato con biotina), C1 <sub>s</sub> attivato in PBS con stabilizzatori		
<b>7</b>	<b>Coniugato C1-inibitore</b>	<b>Codice A9525</b>	<b>7 ml</b>
	Contiene C1-inibitore anti-umano (capra) coniugato con perossidasi in PBS e stabilizzatori		
<b>8</b>	<b>Reagente idratante</b>	<b>Codice A3675</b>	<b>25 ml</b>
	Contiene Proclin 300 0,035%		

Tween® 20 è un marchio registrato di ICI Americas, Inc.  
ProClin® è un marchio registrato di Rohm and Haas Company.

## MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Temporizzatore (intervallo di tempo di 60 minuti)
- Calcolatrice o altro metodo di calcolo per la convalida del dosaggio
- Micropiastre pulite, non ancora usate, e/o provette e rack
- Contenitore per la diluizione del tampone di lavaggio
- Bottiglia per il lavaggio o altro sistema per il lavaggio di un dosaggio immunologico
- Pipetta multicanale regolabile (8 o 12 canali) o micropipette a ripetizione (facoltative)
- Pipette pulite da 1 ml, 5 ml e 10 ml
- Micropipette e punte per pipetta
- Lettore per piastre in grado di effettuare letture  $A_{450}$  della densità ottica tra 0,0 e 3,0
- Acqua deionizzata o distillata

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Per l'uso diagnostico *in vitro*.
- Nel maneggiare il contenuto del kit e i campioni dei pazienti attenersi alle precauzioni universali.
- Smaltire contenitori e rifiuti secondo le normative federali, statali e locali.
- Utilizzare i reagenti forniti come un'unica unità, entro la data di scadenza riportata sull'etichetta della confezione.
- Durante l'utilizzo del kit indossare opportuni indumenti protettivi, guanti e protezioni per gli occhi o il viso.
- Conservare i reagenti come indicato.
- Durante l'aggiunta o l'aspirazione di liquidi dai pozzetti non raschiare o toccare il fondo di questi ultimi.
- L'uso di altri tempi di incubazione e di altre temperature, rispetto a quelli indicati nel paragrafo Procedura, può fornire risultati non corretti.
- Una volta iniziato il dosaggio, non lasciare asciugare i pozzetti.
- Non usare lo stesso pozzetto per più di un test.
- L'uso di pipette multicanale o di pipettatori a ripetizione è raccomandato al fine di garantire una tempestiva dispensazione dei reagenti.
- Per una misurazione accurata dei campioni, aggiungere standard e campioni in maniera precisa. Pipettare con accuratezza usando solo strumenti calibrati.
- La raccolta e la conservazione adeguata dei campioni è essenziale al fine di ottenere risultati accurati.
- Evitare la contaminazione microbica o incrociata dei campioni, dei reagenti o dei materiali. In caso di contaminazione si possono ottenere risultati errati.
- La soluzione bloccante è considerata corrosiva e può causare irritazione. Non ingerire. Evitare il contatto con occhi, pelle e indumenti. In caso di contatto accidentale, lavare immediatamente con acqua l'area colpita. In caso di ingestione contattare un medico.
- Come conservante viene utilizzato ProClin 300. Un contatto accidentale o l'ingestione di tamponi o reagenti che lo contengono può causare irritazione alla pelle, agli occhi o alla bocca. Per ridurre l'esposizione, attenersi alle buone pratiche di laboratorio. In presenza di sintomi, rivolgersi al medico.
- Durante la conservazione e l'incubazione il substrato TMB va protetto dalla luce. Evitare il contatto con occhi, pelle e indumenti. In caso di contatto accidentale, lavare immediatamente con acqua l'area colpita.
- Per evitare la formazione di aerosol durante il lavaggio, usare un sistema che aspiri il liquido di lavaggio all'interno di una bottiglia contenente candeggina per uso domestico.
- Campioni contaminati, iperlipemici o inattivati al calore possono fornire risultati errati.
- Lavarsi accuratamente le mani dopo la manipolazione.
- Per ulteriori informazioni su simboli di pericolo, sicurezza, manipolazione e smaltimento dei componenti di questo kit, consultare la scheda di sicurezza (SDS) reperibile su [quidel.com](http://quidel.com).

## CONSERVAZIONE

I kit chiusi devono essere conservati a 2°C e 8°C. Dopo l'apertura del kit, la soluzione di lavaggio concentrata 20X e il reagente idratante possono essere conservati a 2°C e 30°C.

Dopo avere scelto i reagenti o i materiali da usare nel dosaggio, riportare immediatamente i reagenti inutilizzati alle rispettive temperature di conservazione. Portare tutti i reagenti e i materiali a temperatura ambiente (15°C e 30°C) prima dell'uso.

## INDICAZIONI D'INSTABILITÀ O DETERIORAMENTO DEI REAGENTI

La presenza di torbidità o lo scolorimento della soluzione di lavaggio diluita indica un deterioramento di questo reagente. In questo caso occorre eliminare la soluzione.

## PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

**Trattare e smaltire i campioni secondo le Precauzioni universali.**

Il dosaggio necessita di almeno 10 µl di siero o di plasma EDTA. È necessario raccogliere e preparare tutti i campioni in modo asettico, utilizzando tecniche standard per i test in laboratorio clinico. È da preferire un campione prelevato fresco e non emolizzato. Un campione di plasma EDTA può essere tenuto a temperatura ambiente (15°C e 30°C) fino a 24 ore. Un campione di siero non dovrebbe essere conservato a temperatura ambiente per un tempo superiore a sei ore. Se si prevede di dover conservare a lungo il campione di plasma o siero, è opportuno congelarlo (-20°C o temperatura inferiore). Evitare il congelamento e decongelamento del campione. Eliminare qualunque particolato dal campione eseguendo una centrifuga a bassa velocità prima di effettuare il test.

## PREPARAZIONE DEI REAGENTE

Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (15°C e 30°C) prima dell'uso. Dopo l'uso, rimettere il kit nel frigorifero (2°C e 8°C). Dopo aver rimosso i reagenti e i materiali necessari, riportare i componenti che non verranno utilizzati alle relative temperature di conservazione (vedere *CONSERVAZIONE*). Consultare la tabella per conoscere le quantità dei reagenti e dei materiali necessari.

### 1. Soluzione di lavaggio

Prima dell'uso agitare diverse volte per inversione il flacone della soluzione di lavaggio concentrata 20X. Se questa è stata conservata a 2°C e 8°C possono essersi formati dei cristalli. Per scioglierli, scaldare il flacone in un bagno di acqua a 37°C e 50°C fino a loro completa dissoluzione. Miscelare a fondo. Preparare la soluzione di lavaggio dei pozzetti per microdosaggio diluendo con un litro di acqua distillata o deionizzata tutto il contenuto di uno dei flaconi di soluzione di lavaggio concentrata 20X. Miscelare a fondo. La soluzione di lavaggio è stabile per 30 giorni se viene conservata in un recipiente pulito a una temperatura compresa tra 2 e 8°C. In caso di alterazione del colore o di intorbidimento, gettare il reagente.

### 2. Scelta delle strisce per il microdosaggio

Determinare il numero di campioni da esaminare e aggiungere quindici (15) pozzetti per i cinque standard e i campioni di controllo normali e anormali da esaminare (in duplicato) e un pozzetto per il bianco. Se possibile, si consiglia di esaminare gli standard e i controlli in duplicato in strisce per microdosaggio separate. Basandosi sul numero di pozzetti necessari, rimuovere il numero desiderato di strisce. Fissare le strisce scelte per l'utilizzo nel telaio della piastra. Mettere le strisce non necessarie nel contenitore di conservazione, sigillarlo e conservare a 2°C e 8°C.

### 3. Ricostituzione di standard, controlli e reagente C1-inibitore

Aggiungere 1 ml di reagente idratante a ogni provetta di standard (A-E) e ad ogni controllo. Aggiungere 0,5 ml di reagente idratante a ogni provetta richiesta di reagente C1-inibitore. (una provetta consentirà di trattare circa 25 campioni di test.) Lasciare reidratare le provette ricostituite per almeno 15 minuti a 15°C e 30°C, quindi miscelare accuratamente. Evitare la formazione di schiuma o bolle durante la miscelazione. Gli standard e i controlli ricostituiti sono stabili per 30 giorni se conservati a 2°C e 8°C. **NOTA: prima di eseguire il dosaggio non è necessaria alcuna ulteriore diluizione degli standard e dei controlli ricostituiti.** Poiché vengono fornite quattro (4) provette di reagente C1-inibitore, l'utente è in grado di

eseguire fino a quattro (4) dosaggi diversi con i materiali forniti nel kit. **Il reagente C1-inibitore ricostituito è stabile fino a ventiquattro (24) ore a 2°C e 8°C e fino a due (2) ore a 15°C e 30°C.**

#### 4. Preparazione del diluente per campioni 1X

Per determinare la quantità necessaria di diluente per campioni 1X, fare riferimento alla Tabella 1. Preparare la quantità necessaria di diluente per campioni 1X miscelando il volume indicato di acqua distillata o deionizzata e il diluente per campioni concentrato 5X.

**Tabella 1**  
**Diluente Per Campioni 1X (requisiti e preparazione)**

N. strisce	Diluente per campioni 1X necessario (ml)	Volume dei reagenti richiesto	
		Acqua (ml)	Diluente per campioni 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. Diluizione dei campioni

Determinare il numero (N) di campioni da esaminare. Etichettare le provette del test da 1 a N e registrare quali campioni corrisponderanno a ciascuna provetta. Preparare 1 ml di diluizione in rapporto 1:101 (10 µl di campione in 1 ml di diluente per campioni 1X) di ciascun campione utilizzando il diluente per campioni 1X. Miscelare completamente evitando la formazione di schiuma e bolle. Non conservare né riutilizzare i campioni diluiti.

## PROCEDURA DEL SAGGIO

**Prima di iniziare il saggio, leggere completamente l'insero fornito con il prodotto.**

*Prima di procedere, fare riferimento a PREPARAZIONE DEI REAGENTE.*

1. Registrare su un foglio dati le posizioni dei pozzetti del microdosaggio corrispondenti a tutti i campioni del test, standard e controlli, così come i numeri di lotto indicati nelle etichette delle provette. Etichettare un angolo della piastra per microdosaggio al fine di stabilirne l'orientamento.
2. Trattamento di standard, controlli e campioni di test con il reagente C1-inibitore:
  - a. Aggiungere 100 µl di standard C1-inibitore ricostituito (A, B, C, D, E) alle microprovette etichettate.
  - b. Aggiungere 100 µl di controllo anomalo C1-inibitore e 100 µL di controllo normale C1-inibitore alle microprovette etichettate.
  - c. Aggiungere 100 µl della diluizione in rapporto 1:101 di ciascun campione del paziente (vedere *Diluizione dei campioni*, punto 5 in *PREPARAZIONE DEI REAGENTI*) a una microprovetta etichettata.
  - d. Aggiungere 20 µl di reagente C1-inibitore appena ricostituito alle microprovette contenenti standard, controlli e campioni di test diluiti. Agitare vigorosamente con il vortex ciascuna microprovetta.
  - e. Incubare le microprovette a 15°C e 30°C per 30 ± 1 minuti.
3. A seconda dei requisiti del lettore per piastre EIA, selezionare uno o più pozzetti da utilizzare come bianco e aggiungere 50 µl di diluente per campioni 1X a questi pozzetti per microdosaggio.

4. Aggiungere 50 µl di ciascuno standard e controllo trattato con reagente C1-inibitore (fase 2) allo scopo di duplicare i pozzetti per microdosaggio assegnati. Aggiungere 50 µl di ciascun campione trattato con il reagente C1-inibitore (fase 2) al pozzetto per microdosaggio assegnato.
5. Incubare a 15°C e 30°C per 10 ± 1 minuti.
6. Lavare i pozzetti del microdosaggio attenendosi alla seguente procedura:  
**NOTA: il lavaggio dei pozzetti per microdosaggio è una fase cruciale. Seguire attentamente le istruzioni relative alla procedura di lavaggio.**
  - a. Dopo l'incubazione della fase 5 (o della seguente fase 8), rimuovere il contenuto da ciascun pozzetto.
  - b. Riempire tutti i pozzetti con soluzione di lavaggio (circa 300 µl) usando un flacone di lavaggio o un altro dispositivo di riempimento.
  - c. Incubare i pozzetti per 1 minuto a 15°C e 30°C.
  - d. Rimuovere il contenuto di ciascun pozzetto.
  - e. Riempire tutti i pozzetti con soluzione di lavaggio (circa 300 µl).
  - f. Rimuovere il contenuto di ciascun pozzetto.
  - g. Ripetere i passaggi e-f altre tre volte.**
  - h. Dopo il quinto ciclo di lavaggio, capovolgere la piastra e picchiettare in maniera decisa su carta assorbente per rimuovere l'eventuale liquido di lavaggio residuo. **Non lasciare asciugare i pozzetti.**
7. Usando una pipetta multicanale o a ripetizione, distribuire 50 µl di coniugato C1-inibitore in ciascun pozzetto di test lavato, compreso il pozzetto o i pozzetti del bianco.
8. Incubare le strisce di microdosaggio a 15°C e 30°C per 60 ± 1 minuti.
9. Lavare i pozzetti di microdosaggio dopo l'incubazione di 60 minuti (fase 8), come descritto in *PROCEDURA DI DOSAGGIO*.
10. Subito dopo la procedura di lavaggio, distribuire 100 µl di soluzione di substrato TMB in ciascun pozzetto, compreso il pozzetto o i pozzetti del bianco.
11. Incubare le strisce di microdosaggio a 15°C e 30°C per 15 minuti.
12. Aggiungere 100 µl di soluzione bloccante in ogni pozzetto per interrompere la reazione enzimatica. La soluzione bloccante deve essere aggiunta ai pozzetti nello stesso ordine e alla stessa velocità a cui è stata aggiunta la soluzione di substrato. Picchiettare delicatamente la piastra sul banco per disperdere lo sviluppo del colore in maniera uniforme.
13. Determinare la lettura di assorbanza a 450 nm (valore  $A_{450}$ ) di ogni test entro un'ora dall'aggiunta della soluzione bloccante (fase 12), effettuando una correzione per il bianco in conformità con il sistema di spettrofotometria in uso.
14. Eliminare i campioni diluiti, i controlli, il substrato, il coniugato, il reagente C1-inibitore e le strisce per microdosaggio utilizzate (vedere *AVVERTENZE E PRECAUZIONI*). Conservare il supporto e il fissatore per strisce per utilizzarli in futuro.

## CONTROLLO DI QUALITÀ

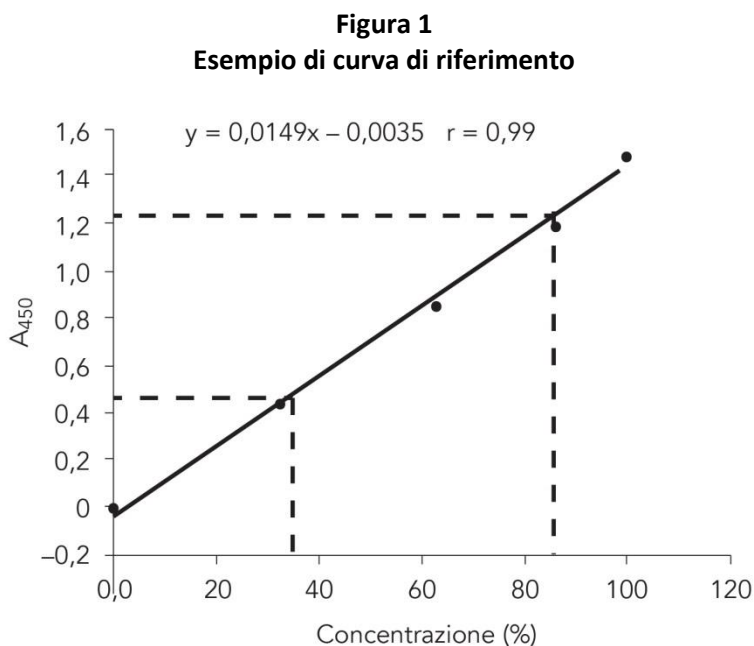
Le buone pratiche di laboratorio consigliano l'uso di controlli per garantire l'esecuzione adeguata del dosaggio. Ciascun kit C1-Inhibitor Plus contiene campioni di controllo normali e anormali che possono essere utilizzati a questo scopo. Questi controlli dovrebbero essere esaminati almeno una volta per ciascun gruppo di campioni, ovvero per ciascuna esecuzione separata. I controlli, quando usati come indicato nelle istruzioni, dovrebbero fornire una percentuale di valori normali medi all'interno degli intervalli specificati nelle etichette delle provette. Dal momento che questi controlli devono essere trattati con reagenti ed esaminati esattamente come un campione tipico, servono come controlli per ciascuna esecuzione di C1-Inhibitor Plus. È inoltre possibile utilizzare controlli esterni, preparati in laboratorio, per garantire che il dosaggio sia eseguito adeguatamente.

Inoltre, l'inserito del prodotto richiede che la curva standard generata con gli standard A-E del kit rispetti rigorosi requisiti di convalida (vedere *INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI*). È necessario esaminare gli standard in duplicato per ciascuna esecuzione del dosaggio. Se il dosaggio non è conforme a questi requisiti, ripetere il dosaggio o contattare l'assistenza tecnica Quidel.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

## Calcolo dei risultati

La curva di riferimento viene generata usando i valori di  $A_{450}$  sottratti del valore del bianco per ogni standard (sull'asse delle y) e la concentrazione assegnata per ciascuno standard (sull'asse delle x). La curva di riferimento deve essere conforme ai requisiti di convalida. Questo calcolo può essere eseguito dalla maggior parte dei computer e delle calcolatrici. Nella Figura 1 è mostrato un esempio di una tipica curva di riferimento.



La concentrazione in percentuale per ciascun campione viene calcolata dalla curva di riferimento utilizzando l'analisi di regressione lineare.

## Convalida

Determinare pendenza, intercetta e coefficiente di correlazione della linea derivata dalla regressione lineare. Per approvare il dosaggio, i valori devono rientrare negli intervalli riportati di seguito:

coefficient di correlazione (r):	maggiore di 0,95
pendenza (m):	compresa tra 0,0107 e 0,0262
intercetta y (b):	compresa tra (-)0,1685 e 0,0910

## Interpretazione

La concentrazione di C1-INH funzionale in un dato campione viene riportata come percentuale del livello medio nei campioni normali. Basandosi su un campione di 100 soggetti normali analizzati da ciascuno dei tre tecnici, con questo dosaggio è stato determinato un livello normale medio di C1-INH funzionale (fare riferimento a *CARATTERISTICHE DEL METODO, Accuratezza*). La percentuale media normale per qualunque campione di test diluito in rapporto di 1:101 viene determinata come specificato nella sezione *Calcolo dei risultati*.

**Risultati anomali:** le concentrazioni di C1-INH inferiori o uguali al 40% della media normale vengono considerate significativamente inferiori a quelle normali e dovrebbero essere considerate anomale. I campioni che vengono riesaminati in quanto equivoci (vedere di seguito) possono essere considerati anch'essi anomali.

**Risultati equivoci:** le concentrazioni di C1-INH all'interno dell'intervallo medio che va da 41% a 67%, sebbene inferiori rispetto a quelle previste per il normale, non sono significativamente inferiori rispetto al



normale e devono essere considerate risultati equivoci. È necessario ripetere il test relativo a questi campioni oppure prelevare ed esaminare un nuovo campione. Se un campione equivoco fornisce nuovamente valori equivoci, il campione è da considerarsi significativamente inferiore al normale e può essere segnalato come anomalo.

**Risultati normali:** le concentrazioni maggiori o uguali al 68% del valore normale medio vengono considerate normali.

## LIMITI DELLA PROCEDURA

Il dosaggio immunoenzimatico C1-inibitore di MicroVue è stato utilizzato per esaminare i campioni prelevati come siero o plasma in EDTA. Non sono stati testati altri anticoagulanti oltre a EDTA.

## RESULTATI ATTESI

Con il kit per dosaggio immunoenzimatico C1-inibitore di MicroVue sono stati testati quarantanove (49) soggetti pediatrici e cinquantuno (51) adulti. Non sono state rilevate differenze significative tra i campioni pediatrici e quelli degli adulti. La concentrazione media di proteina C1-INH in questi campioni è stata definita come il 100% della media normale (deviazione standard = 15,8%).

I campioni di plasma e siero EDTA accoppiati sono stati prelevati da quindici (15) soggetti adulti normali e testati nel dosaggio. Non sono state rilevate differenze significative tra questi tipi di campioni.

Nel dosaggio sono stati esaminati i campioni provenienti da ventotto (28) pazienti con carenze diverse di C1-inibitore documentate. Questi campioni sono stati prelevati da diverse strutture situate in aree geografiche diverse degli Stati Uniti. Tutti i ventotto pazienti esaminati avevano livelli significativamente inferiori di C1-INH funzionale rispetto al livello normale medio. Questi dati sono presentati nella Tabella 2.

**Tabella 2**  
**Pazienti Affetti Da Angiodema**

N. paziente	Sede	Percentuale della media normale (%)	Interpretazione
1P*	A	19	anomalo
1S*	A	37	anomalo
2**	A	0	anomalo
2**	A	6	anomalo
3	A	0	anomalo
4	A	17	anomalo
5	A	6	anomalo
6	A	0	anomalo
7	A	0	anomalo
8†	A	56	anomalo
9†	A	61	anomalo
10	B	8	anomalo
11	C	0	anomalo
12	D	28	anomalo
13	D	14	anomalo
14	D	32	anomalo
15	D	21	anomalo
16†	D	45	anomalo
17	D	3	anomalo
18	D	24	anomalo
19	E	0	anomalo
20	E	0	anomalo
21	E	2	anomalo
22	E	13	anomalo
23	E	17	anomalo
24	E	19	anomalo
25	E	4	anomalo
26	E	3	anomalo
27†	E	44	anomalo
28	E	0	anomalo

\* 1S è siero e 1P è plasma EDTA, prelevati contemporaneamente da un paziente

\*\*I due campioni del paziente 2 sono stati ottenuti a tre anni di distanza

† Dopo la ripetizione, i test di questi pazienti hanno fornito un valore equivoco, pertanto sono stati giudicati anomali

## CARATTERISTICHE DEL METODO

### Accuratezza

Utilizzando un modello di regressione lineare, le concentrazioni di C1-inibitore misurate nel dosaggio immunoenzimatico per quindici sieri normali sono state assegnate sulla base delle concentrazioni determinate da una tecnica di immunodiffusione radiale. La concentrazione di C1-INH nello standard primario è stata determinata utilizzando gli standard del kit assegnato dal valore in base al modello di regressione lineare. Allo scopo di verificare l'accuratezza del modello, per lo standard primario sono state eseguite anche sei determinazioni della concentrazione di C1-INH utilizzando la tecnica di immunodiffusione radiale. Questi due metodi che misurano le concentrazioni di C1-INH non erano significativamente diversi. Il valore medio ottenuto per 100 campioni di siero normale nel dosaggio immunoenzimatico C1-inibitore di MicroVue è stato di 182 µg/ml. Questo valore concorda favorevolmente con la concentrazione normale pubblicata di 180 µg/ml.

## Precisione

Sono stati valutati tre lotti del kit. Ciascun lotto è stato testato tre volte da un tecnico diverso. I campioni sono stati esaminati in repliche di tre in ciascuna delle nove esecuzioni del dosaggio. Nella Tabella 3 è presentata la variazione intra-dosaggio e inter-dosaggio risultante.

**Tabella 3**  
**Riproducibilità Del Dosaggio**

Tipo	C1-inibitore (%)	CV intra-dosaggio <sup>1</sup> (%)	CV inter-dosaggio <sup>2</sup> (%)
Campione 1	105,2	3,3	5,7
Campione 2	78,54	4,0	5,7
Campione 3	21,48	5,4	6,4
Campione 4	16,42	5,1	10,0

<sup>1</sup>n=20 repliche    <sup>2</sup>n=10 dosaggi

## Specificità

Il C1-INH anti-umano di capra, usato per produrre il coniugato, è stato confrontato con un altro anticorpo di C1-INH approvato da FDA e disponibile in commercio. Esso ha dimostrato un'unica linea di identità in un test di immunodiffusione. Inoltre, l'antisiero Quidel è stato giudicato monospecifico per C1-INH quando esaminato a varie concentrazioni nei confronti del siero umano normale appena prelevato contenente 10 mM di EDTA da una doppia immunodiffusione, immunoelettroforesi a una e due dimensioni e immunoelettroforesi a razzo.

## ASSISTENZA

Per effettuare un ordine o per ottenere assistenza tecnica, rivolgersi a un agente di Quidel al numero 800.874-.1517 (negli Stati Uniti) o 858.552.1100 (fuori dagli Stati Uniti), da lunedì a venerdì dalle 8.00 alle 17.00 (ora del Orientale). Gli ordini possono essere effettuati anche via fax al numero 740.592.9820.

Per l'assistenza tecnica fuori dagli Stati Uniti, invitiamo a contattare il distributore di zona. Ulteriori informazioni su Quidel e sui suoi prodotti e distributori sono disponibili sul sito Web [quidel.com](http://quidel.com).

## BIBLIOGRAFIA

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 Calcitonin 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](http://quidel.com)

**PIA037004IT00 (09/21)**

## GLOSSARIO

---

**REF**

Numero di catalogo



Marcio CE di conformità

---

**EC REP**

Rappresentante autorizzato  
nella Comunità Europea

**LOT**

Codice lotto

---



Data di scadenza



Produttore

---



Limitazione di temperatura



Uso previsto

---

**R<sub>x</sub> ONLY**

Da utilizzare esclusivamente dietro  
prescrizione medica



Leggere le istruzioni e di  
etichettatura per l'uso

---



Rischio biologico

**IVD**

Per uso diagnostico *In Vitro*

---



Contenuto sufficiente per 96 determinazioni

**CONT**

Contenuto / Contiene

---

**CONTROL**

Controllo

---