

Enzymimmunanalyse (EIA) for måling av mengden funksjonelt C1-inhibitorprotein i humant plasma eller serum

Til bruk i forbindelse med *in vitro*-diagnostikk.

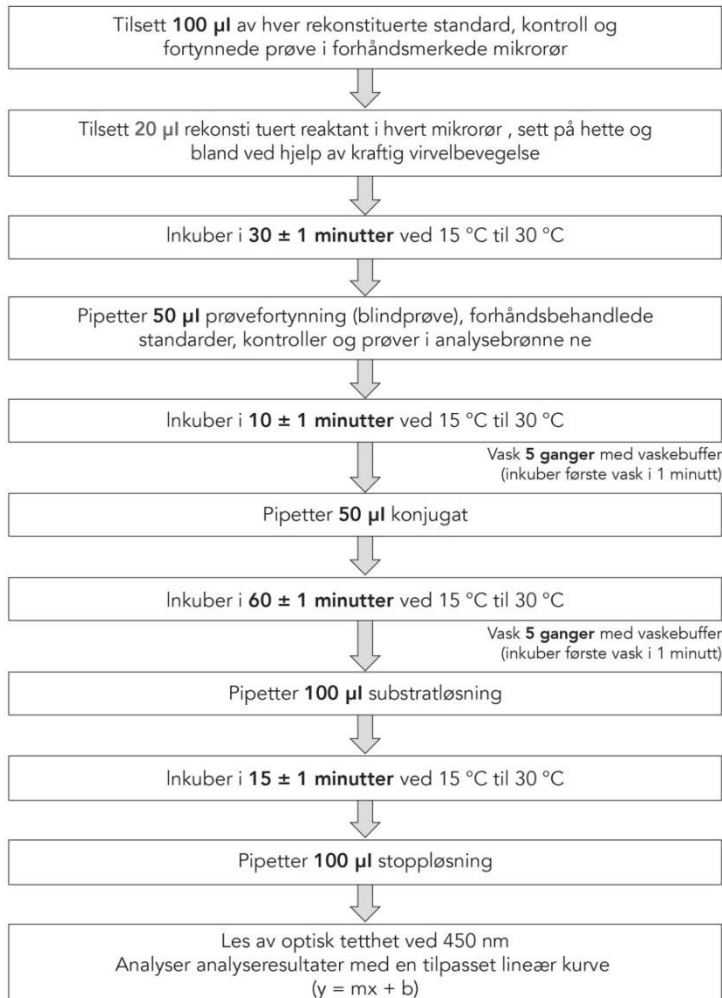
Du finner en symbolordliste på quidel.com/glossary

SAMMENDRAG

Klargjøring av reagens, standarder, kontroller og prøver

- Fortynn vaskebufferkonsentrat 1:20 med avionisert vann
- Fortynn prøvfortynningskonsentrat 1:5 med avionisert vann
- Rekonstituer alle standarder og kontroller med 1,0 ml hydreringsreagens (*la stå i 15 minutter og bland deretter godt*)
- Rekonstituer C1-Inhibitorreaktant med 0,5 ml hydreringsreagens (*roter varsomt i virvelbevegelse og la stå i 15 minutter*) (1 hetteglass behandler ca. 25 testprøver)
- Fortynn prøver 1 :101 med 1X-prøvefortynner (f.eks. 10 µl+ 1 ml)

Analyseprosedyre





BRUKSOMRÅDE

Enzymimmunanalysen MicroVue C1-Inhibitor måler mengden av funksjonelt C1-inhibitorprotein i humant plasma eller serum.

SAMMENDRAG OG FORKLARING

C1-Inhibitor (C1-INH) er en multispesifikk proteaseinhibitor som finnes i normalt humant plasma og serum, og som regulerer enzymer i komplementsystemet, koaguleringsystemet, det fibrinolytiske systemet og det kinindannende systemet.¹ Enzymene (proteaser) som reguleres av dette proteinet, omfatter C1r og C1s som er underenheter av den aktiverte første komponenten i komplementsystemet, aktivert Hageman-faktor (faktor XIIa), Hageman-faktorfragmenter, aktivert plasmatromboplastin-antecedent (PTA-faktor eller faktor XIa), kallikrein (Fletcher-faktor) og plasmin.²

Mangel på funksjonelt aktivt C1-INH kan medføre livstruende angioødem. Det er rapportert om to hovedformer av C1-INH-mangel: en medfødt form, også kalt nedarvet angioødem (HAE)^{3,4}, og en ervervet form, som også er forbundet med en rekke andre sykdommer, blant annet lymfoide maligniteter.⁵ Nedarvet angioødem kjennetegnes ved forbigående, men tilbakevendende, anfall av ikke-kløende hevelser i forskjellige vev over hele kroppen. Symptomatologien avhenger av hvilke organer som er involvert. Anfall i tarmsystemet kan medføre en rekke forskjellige symptomer, blant annet smerte, krampe, oppkast og diaré. Den hyppigste dødsårsaken ved denne sykdommen er luftveisobstruksjon sekundært til strupeødem under et anfall. Det finnes to typer nedarvet angioødem, som kan skjernes biokjemisk. Pasienter med den vanligste typen (85% av HAE-pasientene) har et lavt nivå av funksjonelt C1-INH og C1-INH-antigen. Pasienter med den andre typen (15% av HAE-pasientene) har et lavt nivå av funksjonelt C1-INH, men normalt eller forhøyet nivå av C1-INH-antigen, som er forbundet med en proteinfunksjonsforstyrrelse.⁶ Fordi symptomene varierer ved forskjellige tidspunkter under sykdomsforløpet, er det umulig å stille en endelig diagnose kun på bakgrunn av klinisk observasjon. Nedarvet eller ervervet angioødem kan kun diagnostiseres sikkert ved hjelp av laboratorietester der det påvises en tydelig reduksjon i nivået av funksjonelt C1-INH i pasientens plasma eller serum.

Det er rapportert om flere metoder for måling av funksjonelle eller antigene C1-INH-nivåer. Disse metodene omfatter enzymhemmingsanalyser,^{7,8} radial immunodiffusjon,⁹ immunelektroforese og hemming av immunhemolyse.¹⁰ Det er ulemper forbundet med alle disse metodene.

Enzymhemmingsanalysene⁷ er vanskelige å klargjøre og utføre rutinemessig, de immunkjemiske metodene som måler totalt antigen, kan ikke skjelne mellom funksjonelt og ikke-funksjonelt C1-INH-protein, og anti-C1r-immundiffusjonsmetoden⁹ som ble utviklet til måling av funksjonell C1-INH-aktivitet, er ikke kvantitativ. MicroVue-analysen kan brukes til kvantitativ måling av tilstedeværende nivå av funksjonelt aktivt C1-INH-protein i pasientens plasma eller serum, ved hjelp av en praktisk, standardisert og reproducerbar EIA-prosedyre.

PROSEDYREPRINSIPP

Enzymimmunanalysen MicroVue C1-Inhibitor Plus for kvantifisering av funksjonelt C1-inhibitorprotein (en proteasehemmer) i humant serum eller plasma er en prosedyre som består av fire trinn. I det første trinnet inkuberes standarder, kontroller og testprøver med C1-inhibitorreaktant (biotinyleret, aktivert C1s). Under denne inkuberingen bindes funksjonelt aktivt C1-INH som finnes i standarder, kontroller og testprøver, til C1-inhibitorreaktanten, slik at det dannes komplekser.

I det andre trinnet tilsettes en alikvot av inkuberingsblanding som inneholder C1-inhibitorreaktant, til mikrotiterbrønnene som er forhåndsbelagt med avidin. C1-inhibitorreaktant: C1-INH-komplekser som er til stede i standarder, kontroller eller prøver, bindes til de avidinbelagte mikroanalysebrønnene. Etter inkubering fjernes ubundet materiale med en vaskesyklus.

I det tredje trinnet tilsettes pepperrotperoksidase (HRP)-konjugert anti-humant C1-INH fra geit i hver testbrønn. Under dette trinnet bindes den HRP-konjugerte anti-C1-INH til C1-inhibitorreaktanten: C1-INH-komplekser som ble fanget på overflaten av de avidinbelagte mikroanalysebrønnene. Etter inkubering fjernes rester av konjugat med en vaskesyklus.

I det fjerde trinnet tilsettes et kromogent enzymsubstrat i hver mikroanalysebrønn. Det bundne HRP-konjugatet reagerer med substratet slik at det dannes en blå farge. Etter inkubering stoppes enzymreaksjonen kjemisk, fargen endres til gul og fargeintensiteten måles spektrofotometrisk ved 450 nm. Fargeintensiteten på reaksjonsblandingen er proporsjonal med konsentrasjonen av funksjonelt C1-INH-protein i testprøvene, standardene og kontrollene.

REAGENSER OG MATERIALER SOM LEVERES

Enzymimmunanalysen C1-Inhibitor inneholder følgende:

A	C1-INH standarder (frysetørket) Etter rekonstitusjon inneholder hver en kjent mengde C1-inhibitor i humant plasma, fosfatbufret saltvann (PBS), stabilisatorer	Delenr. A4469-A4473	2 stk. x 1 ml
L	C1-INH abnormal kontroll (human) (frysetørket) Etter rekonstitusjon inneholder hver humant plasma med et lavt nivå av C1-inhibitor i fosfatbufret saltvann (PBS), stabilisatorer	Delenr. A9524	2 x 1 ml
N	C1-INH normal kontroll (human) (frysetørket) Etter rekonstitusjon inneholder hver humant plasma med et normalt nivå av C1-inhibitor i fosfatbufret saltvann (PBS), stabilisatorer	Delenr. A9523	2 x 1 ml
1	Mikroanalyseplate Strimler med åtte brønner, belagt med avidin, i en foliepose som kan forsegles igjen	Delenr. 4634	1 stk.
2	Stoppløsning Inneholder 1 N (4%) saltsyre	Delenr. A9947	12 ml
3	20X-vaskeløsningskonsentrat I fortynnet tilstand inneholder hver fosfatbufret saltvann (PBS), 0,05% Tween-20® og 0,035% Proclin® 300	Delenr. A9957	2 x 50 ml
4	5X-prøvefortynningskonsentrat I fortynnet tilstand inneholder den fosfatbufret saltvann (PBS), stabilisatorer, 0,035% ProClin 300	Delenr. A9519	25 ml
5	TMB-substrat Klart til bruk. Inneholder tetrametylbenzidin (TMB) og hydrogenperoksid	Delenr. 5059	12 ml
6	C1-inhibitorreaktant Etter rekonstitusjon inneholder hver biotinyleret (biotinkonjugert), aktivert C _{1s} i fosfatbufret saltvann (PBS) med stabilisatorer	Delenr. A9527	5 x 0,5 ml
7	C1-inhibitorkonjugat Inneholder peroksidasekonjugert (geit) anti-human C1-inhibitor i fosfatbufret saltvann (PBS), stabilisatorer	Delenr. A9525	7 ml
8	Hydreringsreagens Inneholder 0,035% ProClin 300	Delenr. A3675	25 ml

Tween® 20 er et registrert varemerke for ICI Americas Inc.
ProClin® er et registrert varemerke for Rohm and Haas Company.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE LEVERES

- Timer (for ca. 60 minutter)
- Kalkulator eller annet beregningsutstyr til validering av analysen
- Rene, ubrukte mikroanalyseplater og/eller testrør og stativer
- Beholder til vaskebufferfortynning
- Vaskeflaske eller annet vaskesystem for immunanalyse
- Justerbar pipette med flere kanaler (8 eller 12 kanaler) eller repeterende mikropipetter (valgfritt)
- Rene pipetter, 1 ml, 5 ml og 10 ml
- Mikropipetter og pipettespisser
- Plateleser til avlesing av optisk A_{450} -tetthet mellom 0,0 og 3,0
- Avionisert eller destillert vann

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Til bruk i forbindelse med *in vitro*-diagnostikk.
- Følg generelle forholdsregler ved håndtering av innholdet i dette settet og alle pasientprøver.
- Beholdere og ubrukt innhold skal avfallsbehandles i overensstemmelse med nasjonale, regionale og kommunale forskrifter.
- Bruk de medfølgende reagensene som en integrert enhet, før utløpsdatoen som er angitt på pakningsetiketten.
- Bruk egnede verneklær, hansker og øye-/ansiktsbeskyttelse ved håndtering av innholdet i dette settet.
- Oppbevar analysereagensene som anvist.
- Når væsker tilsettes i eller aspireres fra mikroanalysebrønnene, må du unngå å skrape eller berøre brønnbunnene.
- Hvis det brukes andre inkubasjonstider og -temperaturer enn de som er angitt i avsnittet Prosedyre, kan det føre til feilaktige resultater.
- Mikroanalysebrønnene må ikke få tørke ut når analysen er startet.
- En mikroanalysebrønn må ikke brukes til mer enn én test.
- Bruk av pipetter med flere kanaler eller repeterende pipetter anbefales for å sikre at reagenser tilsettes på riktig tidspunkt.
- Prøver og standarder må tilsettes nøyaktig for å oppnå nøyaktig måling av prøvene. Pipetter forsiktig med kalibrert utstyr.
- For å oppnå nøyaktige resultater er riktig innsamling og oppbevaring av prøvemateriale svært viktig.
- Unngå mikrobiell kontaminering eller krysskontaminering av prøver, reagenser eller materialer. Kontaminering kan føre til feilaktige resultater.
- Stoppløsningen anses som etsende og kan forårsake irritasjon. Må ikke svelges. Unngå kontakt med øyne, hud og klær. Hvis kontakt likevel forekommer, skal du umiddelbart skylle det berørte området med vann. Kontakt lege hvis løsningen svelges.
- ProClin 300 brukes som konserveringsmiddel. Utilsiktet kontakt med eller svelging av buffer eller reagens som inneholder ProClin, kan forårsake irritasjon av hud, øyne eller munn. Bruk god laboratoriepraksis for å redusere faren for eksponering. Kontakt lege ved symptomer.
- TMB-substratet må beskyttes mot lys under oppbevaring og inkubasjon. Unngå kontakt med øyne, hud og klær. Hvis kontakt likevel forekommer, skal du umiddelbart skylle det berørte området med vann.
- For å unngå aerosoldannelse under vasking skal du bruke et instrument til å aspirere vaskeløsningen i en flaske med vanlig blekemiddel til husholdningsbruk.
- Varmeinaktiverte, hyperlipemiske eller kontaminerte prøver kan føre til feilaktige resultater.
- Vask hendene grundig etter håndtering.
- Hvis du ønsker mer informasjon om faresymboler, sikkerhet, håndtering og kassering av komponentene i dette settet, se sikkerhetsdatabladet på quidel.com.

OPPBEVARING

Et uåpnet sett skal oppbevares ved 2°C til 8°C. Etter at settet er åpnet, kan 20X-vaskeløsningskonsentratet og hydreringsreagensen oppbevares ved 2°C til 30°C.

Etter at du har valgt reagensene og materialene som skal brukes til analysen, skal de ubrukte reagensene umiddelbart returneres til riktig oppbevaringstemperatur. La reagenser og materialer nå romtemperatur (15°C til 30°C) før bruk.

TEGN PÅ USTABILITET ELLER FORRINGELSE AV REAGENSER

Hvis den fortynnede vaskeløsningen er uklar eller misfarget, tyder det på forringelse av denne reagensen. Hvis dette skjer, skal løsningen kastes.

HÅNTERING OG FORBEREDELSE AV PRØVEMATERIALE

Håndter og kast alle prøver i overensstemmelse med generelle forholdsregler.

Analysen krever minst 10 µl serum eller EDTA-plasma. Alle prøver skal tas under aseptiske forhold og klargjøres i overensstemmelse med standard teknikker for klinisk laboratorietesting. Ferske, ikke-hemolyserte prøver anbefales. En EDTA-plasmaprøve kan oppbevares ved romtemperatur (15°C til 30°C) i opptil 24 timer. En serumprøve må ikke oppbevares ved romtemperatur i mer enn seks timer. Hvis det forventes en lengre oppbevaring av plasma- eller serumprøven, skal den fryses ned (–20°C eller kaldere). Unngå gjentatt nedfrysing og opptining av prøven. Partikulært materiale skal fjernes fra prøven ved hjelp av sentrifugering ved lav hastighet før testing.

KLARGJØRING AV REAGENS

La alle reagenser nå romtemperatur (15°C til 30°C) før bruk. Etter bruk legges settet tilbake i kjøleskapet (2°C til 8°C). Etter at de nødvendige reagensene og materialene er tatt ut, skal de ubrukte delene returneres til riktig oppbevaringstemperatur (se *OPPBEVARING*). Se tabellen for informasjon om nødvendig mengde av reagenser og materialer.

1. Vaskeløsning

Bland 20X-vaskeløsningskonsentratet ved å snu flasken opp ned flere ganger. Hvis 20X-vaskeløsningskonsentratet har vært oppbevart ved 2°C til 8°C, kan det ha dannet seg krystaller. For å løse opp krystallene legges flasken i et vannbad på 37°C til 50°C til alle krystallene er oppløst. Bland godt. Klargjør vaskeløsningen for vasking av mikroanalysebrønnene ved å fortynne hele innholdet i en av flaskene med 20X-vaskeløsningskonsentrat med opptil én liter destillert eller avionisert vann. Bland godt. Vaskeløsningen er holdbar i 30 dager hvis den oppbevares i en ren beholder ved 2°C til 8°C. Hvis reagensen blir misfarget eller uklar, skal den kastes.

2. Velge mikroanalysestrimler

Fastslå antallet prøver som skal testes, og legg til femten (15) brønner for de fem standardene, normale kontroller og abnormale kontroller som skal testes (i duplikat) samt én blindprøvebrønn. Det anbefales at duplikatene av standarder og kontroller testes med separate mikroanalysestrimler om mulig. Ta ut ønsket antall strimler basert på antall brønner som er nødvendig. Fest strimlene som skal brukes, i platerammen. Legg strimlene som det ikke er behov for, tilbake i oppbevaringsposen, som forsegles og oppbevares ved 2°C til 8°C.

3. Rekonstitusjon av C1-inhibitorstandarder, kontroller og C1-inhibitorreaktant

Tilsett 1 ml hydreringsreagens i hvert hetteglass med standard (A-E) og i hver kontroll. Tilsett 0,5 ml hydreringsreagens i hvert hetteglass med C1-inhibitorreaktant som kreves. (Ett hetteglass er nok til å behandle ca. 25 testprøver.) La de rekonstituerte hetteglassene rehydreres i minst 15 minutter ved 15°C til 30°C, og bland deretter innholdet godt. Unngå at det dannes skum eller bobler under blandingen.

Rekonstituerte standarder og kontroller er stabile i 30 dager når de oppbevares ved 2°C til 8°C. **MERK: Det er ikke nødvendig å fortynne rekonstituerte standarder og kontroller ytterligere før analysen kjøres.** Det følger med fire (4) hetteglass med C1-inhibitorreaktant, slik at brukeren kan kjøre opptil fire (4) forskjellige analyser med materialene fra settet. **Rekonstituert C1-inhibitorreaktant er stabil i opptil tjuefire (24) timer ved 2°C til 8°C og i opptil to (2) timer ved 15°C til 30°C.**

4. Klargjøring av 1X-prøvefortynner

For å fastslå nødvendig mengde 1X-prøvefortynner henvises det til tabell 1. Klargjør den nødvendige mengden 1X-prøvefortynner ved å blande den angitte mengden av destillert eller avionisert vann med 5X-prøvefortynnerkonsentrat.

Tabell 1
1X-Prøvefortynner (krav og klargjøring)

Ant. strimler	1X-prøvefortynner som kreves (ml)	Reagensvolum som kreves	
		Vann (ml)	5X-prøvefortynner (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. Fortynning av prøver

Fastslå antallet (N) prøver som skal testes. Merk testrørene fra nr. 1 til nr. N, og noter hvilken prøve som svarer til hvert enkelt rør. Klargjør 1 ml av en fortynning på 1:101 (10 µl prøve i 1 ml 1X-prøvefortynner) for hver prøve med 1X-prøvefortynner. Bland godt, men unngå at det dannes skum eller bobler. Fortynnede prøver må ikke oppbevares eller brukes på nytt.

ANALYSEPROSEDYRE

Les hele pakningsvedlegget før analysen startes.

Se **KLARGJØRING AV REAGENS** før du fortsetter.

- På dataarket noterer du mikroanalysebrønnposisjonene for alle testprøver, standarder og kontroller, samt partinumrene som er angitt på hetteglassetikettene. Merk et av hjørnene på mikroanalyseplaten til orientering.
- Behandle standarder, kontroller og testprøver med C1-inhibitorreaktant:
 - Tilsett 100 µl av hver rekonstituerte C1-inhibitorstandard (A, B, C, D, E) i forhåndsmerkede mikrorør.
 - Tilsett 100 µL abnormal C1-inhibitor kontroll og 100 µL normal C1-inhibitor kontroll i forhåndsmerkede mikrorør.
 - Tilsett 100 µL av 1:101-fortynningen av hver pasientprøve (se trinn 5, *Fortynning av prøver*, under **KLARGJØRING AV REAGENS**) i et forhåndsmerket mikrorør.
 - Tilsett 20 µl av nylig rekonstituert C1-inhibitorreaktant i mikrorørene med standarder, kontroller og fortynnede testprøver. Bland hvert mikrorør med kraftig virvelbevegelse.
 - Inkuber mikrorørene ved 15°C til 30°C i 30 ± 1 minutter.

3. Avhengig av hvilken EIA-plateleser som brukes, velges én eller flere brønner som en blindprøve, og det tilsettes 50 µL 1X-prøvefortynner i disse mikroanalysebrønnene.
4. Tilsett 50 µL av hver av standardene og kontrollene som ble behandlet med C1-inhibitorreaktant (trinn 2), for å duplisere tildelte mikroanalysebrønner. Tilsett 50 µL av hver av prøvene som ble behandlet med C1-inhibitorreaktant (trinn 2), i den tildelte mikroanalysebrønnen.
5. Inkuber ved 15°C til 30°C i 10 ± 1 minutter.
6. Vask mikroanalysebrønnene på følgende måte:
MERK: Vasking av mikroanalysebrønnene er et kritisk punkt. Følg vaskeinstruksjonene nøye.
 - a. Innholdet i hver brønn fjernes etter inkubasjonen i trinn 5 (eller i trinn 8 nedenfor).
 - b. Fyll alle brønner med vaskeløsning (ca. 300 µL) fra en vaskeflaske eller en annen fylleanordning.
 - c. Inkuber brønnene i 1 minutt ved 15°C til 30°C.
 - d. Fjern innholdet fra hver brønn.
 - e. Fyll alle brønnene med vaskeløsning (ca. 300 µL).
 - f. Fjern innholdet fra hver brønn.
 - g. Gjenta trinn e-f tre ganger til.**
 - h. Etter den femte vaskesyklusen vendes platen opp ned og den bankes to ganger mot absorberende papir for å fjerne gjenværende væske. **Brønnene må ikke tørke.**
7. Dispenser 50 µl C1-inhibitor-konjugat med en pipette med flere kanaler eller en repeterende pipette i hver vaskede testbrønn, inkludert brønnen(e) for blindprøve(r).
8. Inkuber mikroanalysestrimlene ved 15°C til 30°C i 60 ± 1 minutt.
9. Vask mikroanalysebrønnene etter 60 minutters inkubering (trinn 8), som beskrevet under *ANALYSEPROSEDYRE*.
10. Dispenser 100 µl TMB-substratløsning i hver brønn, inkludert brønnen(e) for blindprøve(r), umiddelbart etter vaskeprosedyren.
11. Inkuber mikroanalysestrimlene ved 15°C til 30°C i 15 minutter.
12. Tilsett 100 µL stoppløsning i hver brønn for å stoppe den enzymatiske reaksjonen. Stoppløsningen skal tilsettes i brønnene i samme rekkefølge og ved samme hastighet som substratløsningen. Bank platen varsomt mot benkeplaten slik at substratfargeutviklingen spres jevnt.
13. Bestem absorbansen ved å lese av hver brønn ved 450 nm (A_{450} -verdi) innen én time etter tilsetting av stoppløsningen (trinn 12), og utfør en blindprøvekorrigering i samsvar med det spektrofotometriske systemet som brukes.
14. Kast resten av de fortynnede prøvene, kontrollene, substratet, konjugatet, C1-inhibitorreaktanten og de brukte mikroanalysestrimlene (se *ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER*). Ta vare på strimmelstativ og strimmelholder for senere bruk.

KVALITETSKONTROLL

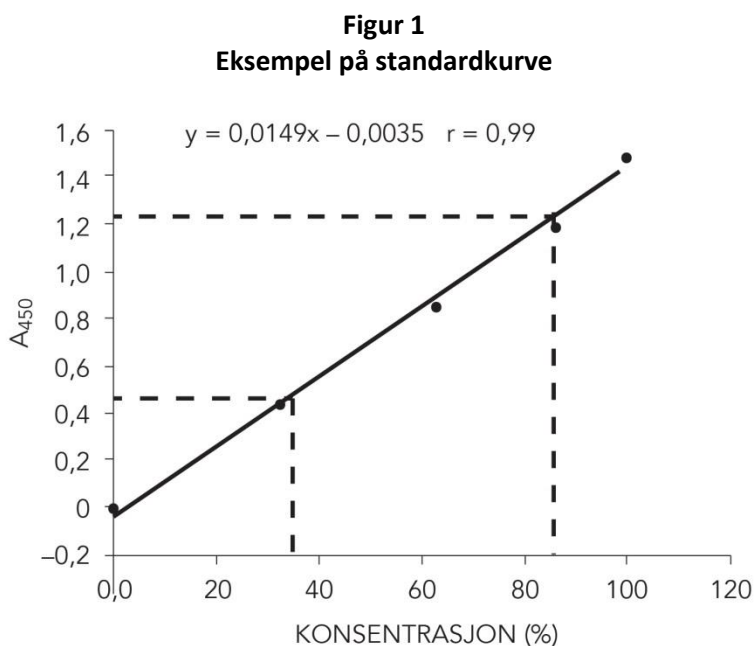
God laboratoriepraksis anbefaler bruk av kontroller for å sikre at analysen utføres riktig. Hvert C1-Inhibitor Plus-sett inneholder normale og unormale kontroller som kan brukes til dette formålet. Disse kontrollene skal testes minst én gang for hvert prøveparti, dvs. for hver separate kjøring. Når kontrollene brukes som instruert, skal de gi en prosentandel av gjennomsnittlige normalverdier innenfor områdene som er spesifisert på sertifikatet for analysen. Ettersom disse kontrollene skal reaktantbehandles og testes nøyaktig på samme måte som en vanlig prøve, fungerer de som kontroller for hver C1-Inhibitor Plus-kjøring. Eksterne kontroller fremstilt av laboratoriet ditt, kan også brukes for å bidra til å sikre at analysen utføres riktig.

Det står dessuten i pakningsvedlegget at standardkurven som genereres med settets A-E-standarder, må oppfylle strenge valideringskrav (se *TOLKING AV RESULTATER*). Standardene skal testes i duplikat for hver analysekjøring. Hvis analysen ikke oppfylder disse kravene, skal du gjenta analysen eller kontakte Quidels tekniske støtte.

FORTOLKNING AV RESULTATER

Beregning av resultater

Standardkurven genereres ved å bruke A_{450} -verdiene for hver standard (på y-aksen) etter at blindprøven er trukket fra, og den fastsatte konsentrasjonen for hver standard (langs x-aksen). Standardkurven må oppfylle valideringskravene. De fleste datamaskiner og kalkulatorer er i stand til å utføre disse beregningene. Det vises et eksempel på en typisk standardkurve i figur 1.



Den prosentvise konsentrasjonen for hver prøve beregnes ved hjelp av en lineær regresjonsanalyse basert på standardkurven.

Validering

Fastslå hellingen, krysspunktet og korrelasjonskoeffisienten for den avledede linjen som passer best. Verdiene må ligge innefor følgende grenser for at analysen skal kunne godkjennes:

korrelasjonskoeffisient (r):	større enn 0,95
helling (m):	0,0107 til 0,0262
y-krysspunkt (b):	(-)0,1685 til 0,0910

Tolking

Konsentrasjonen av funksjonelt C1-INH i en gitt prøve rapporteres som en prosentandel av gjennomsnittsnivået i normale prøver. Basert på en prøve fra 100 normale individer som hver ble analysert av tre teknikere, ble det bestemt et gjennomsnittlig normalnivå for funksjonelt C1-INH med denne analysen (se *Nøyaktighet under YTELSESKARAKTERISTIKKER*). Prosentandelen av gjennomsnittlig normalverdi for en gitt prøve fortynt i forholdet 1:101 bestemmes som spesifisert i avsnittet *Beregning av resultater*.

Abnormale resultater: C1-INH-konsentrasjoner som er lavere enn eller lik 40% av gjennomsnittet, anses som signifikant lavere enn normalen, og skal derfor anses som abnormale. Prøver som fortsatt er tvetydige etter gjentatt testing (se nedenfor), kan også anses som abnormale.

Tvetydige resultater: C1-INH-konsentrasjoner som ligger i området 41-67% av gjennomsnittsverdien, er ikke signifikant lavere enn normalen, selv om de er lavere enn forventet i forhold til gjennomsnittet, og disse anses som tvetydige resultater. Disse prøvene kan testes på nytt, eller det kan tas nye prøver som så

testes. Hvis en tvetydig prøve fortsatt er tvetydig etter gjentatt testing, skal prøven anses som signifikant lavere enn normalen, og den kan rapporteres som abnormal.

Normale resultater: Konsentrasjoner som er større enn eller lik 68% av gjennomsnittlig normalverdi, anses som normale.

BEGRENSNINGER

Enzymimmunanalysen MicroVue C1-Inhibitor Plus har blitt brukt til å teste prøver som er tatt som serum eller plasma i EDTA. Andre antikoagulanter enn EDTA er ikke testet.

MÅLTE VERDIER

Ett hundre (100) normale serumprøver, bestående av førtini (49) prøver fra barn og femtien (51) prøver fra voksne, ble testet i enzymimmunanalysen MicroVue C1-Inhibitor. Der var ingen signifikant forskjell mellom prøvene fra barn og prøvene fra voksne. Gjennomsnittskonsentrasjonen av C1-INH-protein i disse prøvene ble definert til å være 100% av gjennomsnittlig normalverdi (standardavvik = 15,8%).

EDTA-plasma- og serumprøver ble tatt parvis fra femten (15) normale voksne individer og testet med analysen. Der var ingen signifikant forskjell mellom disse prøvetypene.

Prøver fra tjuåtte (28) forskjellige pasienter med dokumentert C1-inhibitormangel ble testet med analysen. Disse prøvene ble innsamlet fra forskjellige klinikker i forskjellige geografiske områder i USA. Alle tjuåtte pasientene hadde et signifikant lavere C1-INH-nivå enn det gjennomsnittlige normalnivået. Disse dataene vises tabell 2.

Tabell 2
Pasienter Med Angioødem

Pasientnr.	Klinikk	Prosent av gjsn. normal (%)	Tolking
1P*	A	19	abnormal
1S*	A	37	abnormal
2**	A	0	abnormal
2**	A	6	abnormal
3	A	0	abnormal
4	A	17	abnormal
5	A	6	abnormal
6	A	0	abnormal
7	A	0	abnormal
8†	A	56	abnormal
9†	A	61	abnormal
10	B	8	abnormal
11	C	0	abnormal
12	D	28	abnormal
13	D	14	abnormal
14	D	32	abnormal
15	D	21	abnormal
16†	D	45	abnormal
17	D	3	abnormal
18	D	24	abnormal
19	E	0	abnormal
20	E	0	abnormal
21	E	2	abnormal
22	E	13	abnormal
23	E	17	abnormal
24	E	19	abnormal
25	E	4	abnormal
26	E	3	abnormal
27†	E	44	abnormal
28	E	0	abnormal

*1S er serum og 1P er EDTA-plasma hentet fra en pasient samtidig.

**De to prøvene fra pasient 2 ble tatt med tre års mellomrom.

† Etter gjentatt test ble prøver fra disse pasientene påvist som tvetydige og derfor ansett som abnormale.

TESTENS YTEEVNE

Nøyaktighet

C1-inhibitorkonsentrasjonene som ble målt i EIA-analysen for femten normale sera, ble tildelt på grunnlag av konsentrasjonen som var fastslått ved en radial immunodiffusjonsteknikk, ved bruk av en lineær regresjonsmodell. C1-INH-konsentrasjonen i den primære standarden ble bestemt ut fra verditildelte standarder i settet basert på den lineære regresjonsmodellen. For å teste modellens nøyaktighet ble det dessuten utført seks C1-INH-konsentrasjonsbestemmelser for den primære standarden ved bruk av den radiale immunodiffusjonsteknikken. Disse to metodene som måler C1-INH-konsentrasjoner, var ikke signifikant forskjellige. Den oppnådde gjennomsnittsverdien for 100 normale serumprøver i enzymimmunanalysen MicroVue C1-Inhibitor var 182 µg/ml. Denne verdien stemmer godt overens med den publiserte normalkonsentrasjonen på 180 µg/ml.

Presisjon

Tre partier med sett ble evaluert. Hvert parti ble testet tre gange av forskjellige teknikere. Prøvene ble testet med tre replikater i hver av de ni analysekjøringene. Tabell 3 viser den resulterende intraanalyse- og interanalysevariasjonen.

Tabell 3
Analysens Reproduserbarhet

Type	C-1 inhibitor (%)	Intraanalyse CV ¹ (%)	Interanalyse CV ² (%)
Prøve 1	105,2	3,3	5,7
Prøve 2	78,54	4,0	5,7
Prøve 3	21,48	5,4	6,4
Prøve 4	16,42	5,1	10,0

¹n = 20 replikater ²n = 10 analyser

Spesifisitet

Det anti-humane C1-INH fra geit som ble brukt til fremstilling av konjugatet, ble sammenlignet med et annet kommersielt tilgjengelig og FDA-godkjent C1-INH-antistoff. I en immunodiffusjonstest viste det en enkelt identitetslinje. Quidel-antiserumet ble dessuten vurdert å være monospesifikt for C1-INH under testing ved forskjellige konsentrasjoner mot ferskt, normalt, humant serum som inneholdt 10 mM EDTA, ved dobbel immunodiffusjon, endimensjonal og todimensjonal immunoelktroforese samt ved elektroimmunodiffusjon.

ASSISTANSE

For å sende inn en bestilling eller for å få teknisk hjelp kan du kontakte en representant fra Quidel i USA på telefonnummer 800.874.1517 (i USA) eller 858.552.1100 (utenfor USA), mandag til fredag mellom 8.00 og 17.00 EST (CET+9). Bestillinger kan også sendes med faks til 740.592.9820.

For service utenfor USA kontaktes den lokale forhandleren. Ytterligere informasjon om Quidel, våre produkter og våre forhandlere finner du på nettstedet quidel.com.

REFERANSER

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

PIA037004NO00 (09/21)

ORDLISTE

REF

Katalognummer



CE-merking for samsvar

EC REP

Autorisert representant
i EU

LOT

Partikode



Bruk innen



Produsent



Temperaturbegrensning



Bruksområde

Rx ONLY

Kun for bruk med resept



Se e-merking instruksjonene før bruk



Biologisk risiko

IVD

Til *in vitro* diagnostisk bruk



Inneholder tilstrekkelig i henhold til
96 bestemmelser

CONT

Innhold/Inneholder

CONTROL

Kontroll
