

Complemento C4

Turbidimetria

Per la determinazione quantitativa del C4 nel siero o plasma.

IVD Per uso diagnostico in vitro. **REF** 6708 – 50ml + 2mL

PRINCIPIO

C4 è il secondo componente che interviene nella reazione classica di attivazione del complemento. Viene sintetizzato principalmente nelle cellule parenchimali del fegato, ma può essere sintetizzato anche da monociti o altri tessuti.

Anticorpi anti- C4 uniti con campioni contenenti C4, formano complessi insolubili. Questi complessi causano una variazione di assorbanza, che dipende dalla concentrazione di C4 presente nel campione del paziente, e che può essere quantificata dal confronto con un calibratore a concentrazione nota di C4.

CAMPIONE

Siero fresco o plasma. EDTA o Eparina possono essere usati come anticoagulanti.

C4 nel siero è stabile 7 giorni a 2-8°C o 3 mesi a: -20°C.

Centrifugare i campioni che presentano particelle di fibrina.

Non usare campioni emolizzati o lipemici.

Agitare e portare i campioni a temperatura ambiente (+15-25°C) prima dell'uso.

REATTIVI

| | | |
|----------------------|-------------------------|-----------|
| Reattivo (A) C4 | Tampone Tris | 20 mmol/L |
| Diluente | PEG 8000 - pH 8.2 | |
| Liquido-Vol. = 50 mL | Sodio azide | 0.95 g/L |
| Reattivo (B) C4 | Siero di capra | |
| Anticorpo | Anti- C4 umano - pH 7.5 | |
| Liquido-Vol. = 2 mL | Sodio azide | 0.95 g/L |

Opzionale: Calibratore Generale Proteine - REF. 7766

Il calibratore non è incluso nel Kit

| | |
|---------------------|--------------------------------|
| Calibratore | CAL GENERALE PROTEINE REF.7766 |
| Liquido-Vol. = 1 mL | |

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Tutti i componenti del kit sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservati ben chiusi a +2-8°C. Non usare i reattivi dopo la data di scadenza.

Dopo l'apertura e il prelievo del reattivo, si consiglia di richiudere immediatamente il flacone, al fine di evitare evaporazione, luce diretta e contaminazione batterica.

Deterioramento del reattivo: Presenza di particelle e torbidità.

PRECAUZIONI-AVVERTENZE

Evitare di pipettare con la bocca.

 **Rischio Biologico per il Calibratore.**

Il preparato, secondo la normativa vigente, è classificato: non pericoloso. La concentrazione totale dei componenti non attivi (conservanti, detergenti,

stabilizzanti) è inferiore ai limiti richiesti per la citazione. Maneggiare tuttavia il prodotto con cautela, evitando l'ingestione, il contatto con gli occhi, la pelle e le mucose. Tutti i campioni devono essere trattati come materiale potenzialmente infetto da HIV o Epatite.

PREPARAZIONE

Reattivi: Pronti all'uso.

Curva di Calibrazione: Preparare le seguenti diluizioni del CALIBRATORE GENERALE PROTEINE utilizzando NaCl 9 g/L come diluente. Moltiplicare la concentrazione di C4 del calibratore per il corrispondente fattore riportato nella tabella seguente per ottenere la concentrazione di C4 di ogni diluizione.

| | | | | | | |
|------------------|-----|-----|------|-----|------|-----|
| Diluizione cal | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Calibratore (µl) | -- | 10 | 25 | 50 | 75 | 100 |
| NaCl 9 g/L (µl) | 100 | 90 | 75 | 50 | 25 | -- |
| Fattore | 0 | 0.1 | 0.25 | 0.5 | 0.75 | 1.0 |

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Bagno termostatico a +37°C.

Spettrofotometro o Fotometro con un filtro a 340 nm (320 - 360 nm)

PROCEDIMENTO

1. Potare i reattivi e lo strumento a 37°C.

2. Condizioni di analisi:

| | |
|------------------|--------|
| Lunghezza d'onda | 340 nm |
| Temperatura | 37°C |
| Cammino ottico | 1 cm |

3. Azzerare lo strumento con acqua distillata.

4. Pipettare nelle provette:

| | |
|-----------------------------|-----|
| Reattivo (A) (µl) | 950 |
| Campione o Calibratore (µl) | 20 |

5. Agitare e leggere l'Assorbanza (A_1) dopo l'aggiunta del campione.

6. Immediatamente, pipettare nelle provette:

| | |
|-------------------|----|
| Reattivo (B) (µl) | 50 |
|-------------------|----|

7. Agitare e leggere l'assorbanza (A_2) del calibratore e del campione esattamente 2 minuti dopo l'aggiunta del Reattivo (B).

CALCOLO

Calcolare la differenza di Assorbanza ($A_2 - A_1$) di ogni punto della curva di calibrazione e riportare i valori ottenuti contro la concentrazione di C4 di ogni diluizione del calibratore. La concentrazione di C4 nel campione è calcolata per interpolazione della sua differenza di assorbanza ($A_2 - A_1$) nella curva di calibrazione.

VALORI DI RIFERIMENTO⁵

Neonati: Fra 13 – 38 mg/dL

Adulti: Fra 10 – 40 mg/dL



I valori sopra riportati devono essere considerati indicativi; si consiglia ad ogni laboratorio di stabilire l'intervallo di riferimento in relazione alla propria area geografica, secondo il protocollo IFCC.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si raccomandano sieri di controllo per controllare le prestazioni di analisi manuale o mediante analizzatori. A tal fine, è disponibile il CONTROLLO GENERALE PROTEINE **Giesse Diagnostics** (REF. 7767).

PRESTAZIONI DEL METODO

LINEARITÀ: Fino a 100 mg/dL*, nelle condizioni di analisi descritte. Campioni con concentrazioni più alte devono essere diluiti 1:5 in NaCl 9 g/L ed esaminati di nuovo. Il limite di linearità e il range di misura dipendono dal rapporto campione/reattivo. Esso sarà più alto al decrescere del volume del campione, sebbene la sensibilità del test sarà proporzionalmente diminuita.

LIMITE MISURABILE: Valori inferiori a 1 mg/dL danno risultati non riproducibili.

EFFETTO PROZONA: Nessun effetto prozona fino a 500 mg/dL
SENSIBILITÀ: Δ 3.76 mA mg/dL (5 mg/dL), Δ 12.9 mA mg/dL (37 mg/dL)

PRECISIONE:

| Media (mg/dL) | nella serie (n=10) | | | tra le serie (n=10) | | |
|---------------|--------------------|------|------|---------------------|------|------|
| | 10.4 | 12.8 | 47 | 10.4 | 12.8 | 47 |
| DS | 0.32 | 0.26 | 1.54 | 0.50 | 0.37 | 2.63 |
| CV | 3.12 | 1.99 | 3.28 | 4.84 | 2.87 | 5.59 |

ACCURATEZZA: Risultati ottenuti usando questo reattivo non mostrano differenze sistematiche se confrontati con i reattivi di riferimento.

I risultati dipendono dal tipo di analizzatore usato.

*La linearità dipende dalla concentrazione del calibratore.

INTERFERENZE

Emoglobina (10 g/L), bilirubina (40 mg/dL) e fattore reumatoide (600 IU/mL) non interferiscono. Lipemia (1.25 g/L) interferisce. Altre sostanze possono interferire.^{6,7}

BIBLIOGRAFIA

- 1) Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tiets W B Saunders Co. Philadelphia, 483, 1983.
- 2) Yang Y et al. Curr Dir Autoimmun 2004;7: 98-132
- 3) Borque L et al. Clin Biochem 1983; 16:330-333.
- 4) Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- 5) Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520
- 6) Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACC Pres, 1955
- 7) Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACC Pres, 1997