

USO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, immunoturbidimetrico, per la determinazione quantitativa (concentrazione) di C4

PRINCIPIO DEL METODO

La Proteina del complemento C4 presente nel campione precipita in presenza di anti-corpi anti-C4 umana. La dispersione di luce generata dai complessi antigene-anticorpo è proporzionale alla concentrazione di C4 e può essere quantificata in turbidimetria^{1,2}

CONTENUTO DEL KIT

Reattivo	1x50 mL
----------	---------

COMPOSIZIONE DEL KIT

Reagente: Anticorpi anti-C4 umana, tampone Tris 20 mmol/L, pH 8.2. Sodio azide 0.95 g/L

REATTIVI SUPPLEMENTARI

Calibratore Proteine cod. A31579 1x 2 mL (pronto all'uso) necessario per l'allestimento della curva di calibrazione.

ACCESSORI NON FORNITI A CORREDO

- Bagno termostato a 37°C
- Timer
- Autoanalizzatore, spettrofotometro o fotometro con cuvette termostate a 37°C con possibilità di lettura a 340±20 nm

CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Il kit deve essere mantenuto a 2-8°C.

I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta se conservati ben chiusi e non contaminati durante l'uso.

Indicatori di deterioramento:

Reagenti: presenza di materiale particolato in soluzione, torbidità, assorbanza del bianco superiore a 0,300 a 340 nm.

PRECAUZIONI

- DISPOSITIVO MEDICO-DIAGNOSTICO PER USO ESCLUSIVO *in vitro*
- Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza indicata
- Tutti i campioni biologici impiegati devono essere considerati POTENZIALMENTE INFETTI e, come tali, manipolati secondo la B.P.L.



PREPARAZIONE dei REAGENTI

Tutti i reagenti contenuti nel kit sono pronti all'uso

RACCOLTA DEL CAMPIONE

Il siero o plasma raccolti mediante procedimenti standard. Utilizzare EDTA o eparina quali anticoagulanti. Campioni emolizzati o fortemente ipemici non possono essere utilizzati. La C4 nel siero plasma è stabile 2 gg. a 2-8°C

PREPARAZIONE dei REAGENTI

Tutti i reagenti contenuti nel kit sono pronti all'uso

Curva di Calibrazione: Preparare diluizioni del Calibratore impiegando soluzione salina 9 g/L come diluente. Moltiplicare la concentrazione C4 del Calibratore per il fattore corrispondente indicato nella tabella, per ottenere la concentrazione C4 delle diluizioni.

Diluizione	1	2	3	4	5	6
Calibratore (µL)	---	10	25	50	75	100
Sol. salina (µL)	100	90	75	50	25	---
Fattore	0,0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

PROCEDIMENTO OPERATIVO

Portare i reagenti e la strumentazione analitica a 37°C

1. Dispensare in una cuvetta

Reagente	1,0 mL
Bianco (H ₂ O distillata), Calibratore o Campione	25 µL

2. Mescolare ed inserire la cuvetta nello strumento di lettura. Far partire il timer.
3. Leggere e registrare l'assorbanza del bianco reagenti, dei calibratori e dei controlli a 340 nm dopo esattamente 2 minuti dall'aggiunta del campione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Curva di calibrazione: riportare, su grafico cartesiano, i valori di assorbanza ottenuti per ciascun calibratore (ordinate, y) contro le relative concentrazioni (ascisse, x). Utilizzare l'assorbanza del bianco reagenti come punto 0 (origine degli assi cartesiani). La concentrazione di C4 per ciascun controllo e/o campione viene calcolata per interpolazione della relativa assorbanza sulla curva di calibrazione.

VALORI DI RIFERIMENTO

Adulti siero³: 10 - 40 mg/dL
Neonati⁴: 13 - 38 mg/dL

Questo intervallo di concentrazione viene fornito a titolo orientativo: ciascun Laboratorio dovrebbe il proprio range di riferimento.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si raccomanda l'utilizzo del siero di controllo cod. A31549 Livello I e cod. A31550 Livello II, per verificare la qualità della procedura analitica. Ciascun Laboratorio dovrebbe stabilire la propria procedura interna di Controllo di Qualità.

PRESTAZIONI DEL METODO

- Linearità: 100 mg/dL
- Limite di sensibilità: 4.2 mg/dL di C3
- Intervallo di misura: valori approssimativi, dipendenti dalla concentrazione del calibratore più elevato. Qualora si ottengano valori superiori a quello del calibratore più elevato è necessario diluire 1/5 con soluzione salina e ristare.
- Riproducibilità analitica (intrasaggio)

Concentrazione media	CV	N
19.9 mg/dL	3.1 %	10
37.6 mg/dL	2.3 %	10

- Riproducibilità analitica (intersaggio)

Concentrazione media	CV	N
19.9 mg/dL	3.6 %	10
37.6 mg/dL	4.7 %	10

- Sensibilità Analitica: Δ di 9.34 mA a 340 nm = 1 mg/dL in un campione con una concentrazione di 47.6 mg/dL
- Correlazione: i risultati ottenuti utilizzando il presente metodo non hanno mostrato differenze sistematiche comparandoli con sistemi analitici di riferimento; i relativi test di correlazione sono disponibili a richiesta.
- Effetto prozona: si possono ottenere risultati falsamente sottostimati quando la concentrazione di C4 nel campione è superiore a 200 mg/dL
- Interferenti: bilirubina (10 mg/dL), ipemia (trigliceridi 4 g/L), emoglobina (2,5 g/L) e fattori reumatoidi (400 IU/ml) non hanno mostrato effetti d'interferenza⁵. In letteratura sono riportati alcune sostanze e farmaci che possono interferire con il dosaggio di C4⁶.

CONSIDERAZIONI BIOCHIMICO-CLINICHE

C4 è una componente del sistema del complemento che risulta essenziale per la attivazione della via classica. I livelli plasmatici possono risultare modestamente elevati a causa di una risposta di fase acuta (risposta infiammatoria, trauma, necrosi tissutale). Una deficienza genetica di C4 completa si associa ad una elevata prevalenza di malattie autoimmuni o collagene-vascolari, specialmente nel Lupus Erimatoso Sistemico. La concentrazione di C4 può diminuire a causa del consumo dovuto alla formazione di immunocomplessi.

La diagnosi clinica non può essere mai effettuata sulla scorta di un singolo test, ma deve essere supportata ed integrata con riscontri clinici ed ulteriori dati di Laboratorio.

NOTE

1. Questi reattivi possono essere utilizzati sulla maggior parte degli analizzatori automatici. Ogni applicazione dovrà essere valicata a dimostrazione che i risultati siano in accordo con le caratteristiche del metodo.
2. Il limite di linearità dipende dalla relazione campione/reattivo e dell'analizzatore in uso. Aumenta riducendo il volume di campione, sebbene la sensibilità del metodo diminuirà

BIBLIOGRAFIA

1. Narayanan, S.; *Clin. Chem.*, Vol. 28, 1528-1531, 1982
2. Price, C.P., et Al.; *Annal. Clin. Biochem.*, Vol. 20, 1-14, 1983
3. Dati, F., et Al.; *Eur. J. Clin. Chem.*, Vol.34, 517-520, 1996
4. Tietz *Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co. (1999)
5. Young, D.S.; *Effects of drugs on clinical laboratory*, 3th ed. AACC Press, 1997
6. Friedman and Young.; *Effects of disease on clinical laboratory tests*, 3th ed. AACC Press, 1997

Codici di Riordino:

- A31577 COMPLEMENTO C4 50 mL
- A31579 Protein Calibrator 1x2 mL
- A31549 Protein Control Level I 1x2 mL
- A31550 Protein Control Level II 1x2 mL



Bio Plastic Sas - 00100