



Finalidade

Método imunoturbidimétrico para a determinação do componente C4 do complemento, para uso diagnóstico *in vitro*.

Significado clínico

O C4 é uma β -1-proteína componente do complemento.

Níveis séricos baixos são observados em doenças como lúpus sistêmico, doenças hereditárias e infecções de repetição.

Fundamentos do método

A proteína C4 do complemento reage com o anticorpo específico anti-C4 formando imunocomplexos insolúveis.

A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de C4 na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução fisiológica tamponada, pH 7,35 $\pm$ 0,10.

B. Reagente B: anticorpo monoespecífico anti-C4.

Reagentes não fornecidos

- Solução fisiológica.

- Protein Calibrator da Laborlab.

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico *in vitro*, destinado ao uso por profissionais treinados.

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Uma vez aberto, os frascos devem ser conservados sob refrigeração perfeitamente fechados. Não congelar.

Amostra

Soro ou plasma com heparina

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

b) Aditivos: quando for utilizado plasma, recomenda-se não utilizar heparina em excesso como anticoagulante.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: utilizar soros frescos. Caso o ensaio não seja realizado no mesmo dia, a amostra pode ser conservada 48 horas sob refrigeração (2-10°C). Para um período maior, a amostra deve ser conservada imediatamente a -20°C.

Interferências

Não utilizar soros hemolisados ou contaminados.

Não são observadas interferências por bilirrubina até 20 mg/dl, triglicérides até 500 mg/dl nem hemoglobina até 10 g/dl.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.

- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados.

- Tubos de Kahn ou hemólise.

- Relógio ou timer.

Condições de reação

- Comprimento de onda: 340 nm

- Temperatura de reação: temperatura ambiente (25°C). O controle da temperatura não é crítico, podendo oscilar entre 22 e 30°C.

- Tempo de reação: 30 minutos.

Procedimento

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Realizar em tubos de Kahn as seguintes diluições em solução fisiológica do Protein Calibrator: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 e 1:160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

Protein Calibrator diluído	150 ul
Reagente A	900 ul

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	120 ul
------------	--------

Misturar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada. Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada diluição do Protein Calibrator, incluindo o ponto zero. Representar numa folha de papel milimetrado as diferenças de absorbância ΔA em função da concentração em mg/dl (g/l) do Protein Calibrator.

PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS

Realizar diluições 1:10 da Amostra em solução fisiológica.

Amostra diluída	150 ul
Reagente A	900 ul

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	120 ul
------------	--------

Misturar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada.

Cálculo dos resultados

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolar os dados ΔA na curva de calibração para determinar a concentração em mg/dl (g/l) que corresponde à amostra estudada.

As amostras com absorbância superior à do Protein Calibrator devem ser diluídas 1:2 com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos por dois.

Exemplo:

Curva de calibração

	Valor teórico	DO_1	DO_2	DA ($DO_2 - DO_1$)
Calibrador 0	0,00	0,083	0,085	0,002
Calibrador 1	3,94	0,097	0,166	0,069
Calibrador 2	7,88	0,098	0,204	0,106
Calibrador 3	15,75	0,103	0,269	0,166
Calibrador 4	31,50	0,102	0,363	0,261
Calibrador 5	63,00	0,101	0,488	0,387

Método de controle de qualidade

É recomendado o uso de Immunology Control Level 1 da Laborlab.

O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

Valores de referência

10 - 40 mg/dl (0,1 - 0,4 g/l).

Os valores de referência apresentados são apenas orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos de referência de acordo com sua população atendida.

Conversão de unidades ao sistema SI

C4 (mg/dl) $\times$ 10 = C4 (mg/l)

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

A turbidez e partículas nas amostras podem interferir com a prova. Por tal motivo, as partículas que possam resultar de uma coagulação incompleta ou de uma desnaturação das proteínas devem ser removidas pela centrifugação antes de proceder ao ensaio.

As amostras que apresentam absorvâncias maiores ao calibrador mais alto da curva de calibração, deverão ser diluídas e ensaiadas novamente. A concentração de C4 para estas amostras é obtida multiplicando o resultado pelo fator de diluição correspondente.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando no mesmo tempo 20 duplicatas de uma mesma amostra, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
32,3 mg/dl	± 0,49 mg/dl	1,5 %
36,9 mg/dl	± 1,21 mg/dl	3,3 %

b) Faixa dinâmica: podem ser obtidos valores entre a menor e maior concentração do calibrador na curva de calibração (por volta de 70 mg/dl).

c) Limite de detecção: a mínima concentração quantificável de C4 é 5 mg/dl.

Parâmetros para analisadores automáticos

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

Para a calibração, deve ser utilizado **Protein Calibrator** da Laborlab.

Apresentação

1 x 30 ml Reagente A

1 x 2,5 ml Reagente B

(Cód. 1770490)

1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1779644)

Referências

- Dati, F. - J. of I.F.C.C. VIII/1:29 (1996).
- Ahmed, A. et al. - Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2/5:509 (1995).
- Butts, W. et al. - Clin. Chem. 23/3:511 (1977).
- Buffone, G. et al. - Clin. Chem. 23/6:994 (1977).
- Borque, L. et al. - Clin. Biochem. 16/6:330 (1983).
- Prince, C. et al. - Ann. Clin. Biochem. 20:1 (1983).
- Whicher, J. - Clin. Chem. 40/6:934 (1994).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br



Fin y uso

Método inmunoturbidimétrico para la determinación del componente C4 del complemento

Significación clínica

El C4 es una β -1-proteína componente del complemento. Niveles bajos en suero se asocian con lupus sistémico, enfermedades hereditarias e infecciones a repetición.

Fundamentos del método

La proteína C4 del complemento reacciona con el anticuerpo específico anti-C4 formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez provocada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de C4 en la muestra y puede medirse espectrofotométricamente.

Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución fisiológica tamponada, pH 7,35 $\pm$ 0,10.

B. Reactivo B: anticuerpo monoespecífico anti-C4.

Reactivos no provistos

- Solución fisiológica.
- **Protein Calibrator** de Laborlab.

Instrucciones para su uso

Reactivos Provistos: listos para usar.

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez que los frascos han sido abiertos, deben ser conservados herméticamente cerrados en refrigerador. No congelar.

Muestra

Suero o plasma heparinizado

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda no emplear niveles en exceso de heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no emplear sueros hemolizados o contaminados.

No se observan interferencias por bilirrubina hasta 20 mg/dl, triglicéridos hasta 500 mg/dl, ni hemoglobina hasta 10 g/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: se recomienda usar suero preferentemente fresco. Si el ensayo no puede ser realizado en el mismo día, la muestra puede ser conservada 48 horas en refrigerador (2-10°C). En caso que se deba procesar en un período más largo de tiempo, debe conservarse inmediatamente a -20°C.

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Micropipetas y pipetas capaces de medir los volúmenes indicados.
- Tubos de Kahn o hemólisis.
- Reloj o timer.

Condiciones de reacción

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (25°C). El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C.
- Tiempo de reacción: 30 minutos

Procedimiento

CURVA DE CALIBRACION

Realizar en tubos de Kahn, las siguientes diluciones en solución fisiológica, del

Protein Calibrator 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 y 1:160, empleando solución fisiológica como punto cero.

Protein Calibrator diluido	150 ul
Reactivo A	900 ul

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	120 ul
------------	--------

Mezclar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando el aparato a cero con agua destilada.

Calcular la diferencia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada dilución del Protein Calibrator, incluyendo el punto cero.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) en función de la concentración en mg/dl (g/l) del Protein Calibrator.

PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

Realizar diluciones 1:10 de las muestras en solución fisiológica.

Muestra diluida	150 ul
Reactivo A	900 ul

Homogeneizar y leer la absorbancia a 340 nm (DO_1) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	120 ul
------------	--------

Mezclar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando el aparato a cero con agua destilada.

Cálculo de los resultados

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta diferencia (ΔA) en la curva de calibración para determinar la concentración en mg/dl correspondiente a la muestra estudiada. Las muestras con absorbancias superiores a la del Protein Calibrator, deben ser diluidas 1:2 con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por dos.

Ejemplo:

Curva de calibración

	Valor teórico	DO_1	DO_2	$\Delta A (DO_2 - DO_1)$
Calibrador 0	0,00	0,083	0,085	0,002
Calibrador 1	3,94	0,097	0,166	0,069
Calibrador 2	7,88	0,098	0,204	0,106
Calibrador 3	15,75	0,103	0,269	0,166
Calibrador 4	31,50	0,102	0,363	0,261
Calibrador 5	63,00	0,101	0,488	0,387

Método de control de calidad

Se recomienda el uso de **Immunology Control Level 1** de Laborlab.

El Control es procesado de la misma manera que las muestras.

Valores de referencia

10 - 40 mg/dl (0,1 - 0,4 g/l).

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia.

Conversión de unidades al sistema SI

$C4 (mg/dl) \times 10 = C4 (mg/l)$

Limitaciones del procedimiento

La turbidez y la presencia de partículas en las muestras, pueden interferir con la prueba. Por lo tanto, las partículas que puedan resultar de una coagulación incompleta, o de una desnaturalización de las proteínas, deben ser removidas por centrifugación antes de proceder a su ensayo.

Las muestras que presentan absorbancias superiores al calibrador más alto de la

curva de calibración, deberán ser diluidas y ensayadas nuevamente. La concentración de C4 para dicha muestra se obtiene multiplicando el resultado obtenido por el factor de dilución correspondiente.

Performance

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente 20 replicados de una misma muestra, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	C.V.
32,3 mg/dl	± 0,49 mg/dl	1,5 %
36,9 mg/dl	± 1,21 mg/dl	3,3 %

b) Rango dinámico: se pueden obtener valores entre la concentración de calibrador más baja y más alta de la curva de calibración (alrededor de 70 mg/dl).

c) Límite de detección: la mínima concentración cuantificable de C4 es 5 mg/dl.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Para la calibración, se debe utilizar **Protein Calibrator** de Laborlab.

Presentación

1 x 30 ml Reactivo A
1 x 2,5 ml Reactivo B
(Cód. 1770490)

1 x 60 ml Reactivo A
1 x 5 ml Reactivo B
(Cód. 1779644)

Bibliografía

- Dati, F. - J. of I.F.C.C. VIII/1:29 (1996).
- Ahmed, A. et al. - Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2/5:509 (1995).
- Butts, W. et al. - Clin. Chem. 23/3:511 (1977).
- Buffone, G. et al. - Clin. Chem. 23/6:994 (1977).
- Borque, L. et al. - Clin. Biochem. 16/6:330 (1983).
- Prince, C. et al. - Ann. Clin. Biochem. 20:1 (1983).
- Whicher, J. - Clin. Chem. 40/6:934 (1994).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo