

Determinación cuantitativa del complemento C4 (C4) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación del complemento C4 en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos anti-C4 forman compuestos insolubles cuando se combinan con el C4 de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de C4 en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de C4 de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO¹

El complemento C4 es el segundo componente reactivo de la vía clásica de activación del complemento. Es una proteína sintetizada por el hígado, aunque también puede ser sintetizado por los monocitos u otros tejidos.

La concentración de C4 en plasma, aumenta como consecuencia de una respuesta de fase aguda (trauma, inflamación o necrosis tisular).

Una deficiencia genética completa induce una disminución de la concentración de C4 en plasma, asociada a una elevada prevalencia de enfermedades autoinmunes o colágeno-vasculares, particularmente, el Lupus Eritematoso Sistémico (SLE). También su concentración puede disminuir como consecuencia del consumo en la formación de complejos inmuno.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-C4 humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACION

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el PROT CAL para la calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada 2 semanas, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACION

Reactivos: Listos Para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del PROT CAL en NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de C4, multiplicar la concentración de C4 del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro: Presencia de partículas y turbidez.
No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas.
No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

- Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 340 nm
 - Temperatura: 37°C
 - Paso de luz de la cubeta: 1 cm
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1	800 µL
Muestra o Calibrador	20 µL

- Mezclar y leer la absorbancia (A₁) después de la adición de la muestra.
- Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	200 µL
-------------	--------

- Mezclar y leer la absorbancia (A₂) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias (A₂ - A₁) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de C4 de cada dilución del Calibrador. La concentración de C4 en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A₂- A₁) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL cod: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA⁴

Recién nacidos: Entre 13 - 38 mg/dL.

Adultos: Entre 10 - 40 mg/dL.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

- Rango de medida:** hasta 75 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.
- Límite de detección:** valores por debajo de 1 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
- Sensibilidad:** Δ 23.6 mA/mg/dL (5 mg/dL), Δ 12.9 mA / mg/dL (37 mg/dL),
- Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 500 mg/dL.
- Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	8.57 mg/dl	22.46 mg/dl	42.98 mg/dl
Total	3.9%	2.4%	1.9%
Within Run	1.6%	1%	1%
Between Run	2.2%	1.6%	1.1%
Between Day	2.8%	1.4%	1.2%

- Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método inmunoturbidimétrico de Bayer. 46 muestras de concentraciones de C4 entre 9 y 60 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos.

El coeficiente de regresión (r) fue de 0,97 y la ecuación de la recta de regresión y = 1.16 x - 1.86.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y los factores reumatoides (600 UI/mL), no interfieren. Los lípidos (1,25 g/L), interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁵⁻⁶.

NOTAS

- El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

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

PRESENTACION

Ref.: 1102104 Cont. R1. Diluyente: 1 x 40 mL
R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL