

Automation Hitachi™ 911/912

C4 turbidimetric

IVD

Metodo turbidimetrico per la determinazione quantitativa del complemento C4 nel siero o nel plasma umano.

REF	Contenuto	REAGENTI
101974220H	: 2x20 ml Manual : 40 test	R1:2x20 ml
Test AUTOMATION		
Hitachi 704		100
Hitachi 717, 902, 911, 912		114



1.0 SOMMARIO

Il **complemento** è un insieme di proteine che fanno parte del Sistema Immunitario che vengono attivate in seguito ad infezioni batteriche, oppure in seguito a infiammazioni o altre patologie. Lo scopo fondamentale del complemento è quello di **proteggere l'organismo** attraverso la rimozione degli agenti patogeni (batteri, virus, ecc) facilitando la loro eliminazione o il loro controllo da parte di altri sistemi biologici, sierici o cellulari. La **frazione C4** è una proteina del complemento che viene attivata dalla presenza di anticorpi e complessi di anticorpi. Questa proteina è alla base di una serie di reazioni a cascata che si concludono con diverse reazioni infiammatorie messe in atto dall'organismo per far fronte a batteri, patogeni o particolari situazioni patologiche.

2.0 PRINCIPIO

Il test C4 è un test quantitativo turbidimetrico per la misura delle complemento C4 nel siero o plasma umano.

Anticorpi anti-C4umane, quando vengono mescolati con campioni contenenti IgA, formano dei complessi insolubili. Questi complessi causano una variazione di assorbanza, che dipende dalla concentrazione di C4 presenti nel campione del paziente, che può essere quantificata se comparata con un calibratore a concentrazione nota di C4.

3.0 CAMPIONE

Siero fresco o plasma. Come anticoagulanti devono essere usati EDTA oeparina. Campioni con presenza di fibrina devono essere centrifugati prima del dosaggio. Non usare sieri fortemente emolizzati o lipemici.

3.1 Prelievo dei campioni/Fattori preanalitici

Si raccomanda di effettuare la raccolta dei campioni in conformità al Documento NCCLS H11-A3.^[4]

3.2 Conservazione e stabilità

	Temperatura (°C)		
Campioni	20-25	4-8	- 20
Siero/plasma:	3 giorni	7 giorni	3 mesi

4.0 VALORI DI RIFERIMENTO

Adulti 10 – 40 mg/dL
Neonati 13 – 38 mg/dL

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire dei propri intervalli di riferimento in relazione alla propria popolazione.

5.0 REAGENTI

Solo per uso diagnostico in vitro.

I componenti del kit sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Conservare al riparo da luce diretta.

Reagente 1 (pronto all'uso) : 2 x 20 ml (liquido pronto all'uso)

Anticorpi di capra anti-C4 umana, Tris buffer 20 mmol/L, pH 8.2, sodio azide 0.95 g/L.

6.0 PREPARAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Tutti i reagenti sono forniti allo stato liquido, pronti all'uso.

6.1 Curva di Calibrazione.

Il dosaggio è calibrato contro il Materiale di Riferimento CRM 470/RPPHS (Inst. For Reference Materials and Measurements). Si consiglia l'uso del calibratore per le plasmaproteine (Ref.:101346).

Curva di Calibrazione: preparare le seguenti diluizione del cal. Per plasmaproteine in NaCl 9 g/L. Moltiplicare la concentrazione del cal.C3 per i corrispondenti fattori, come da tabella, per ottenere la concentrazione di C4 di ciascuna diluizione.

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

6.2 Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C. Non congelare i reagenti !

Dopo apertura

- I reattivi sono stabili fino alla data di scadenza, se evitate contaminazione ed evaporazione e conservato al riparo dalla luce.
- Le condizioni sopracitate sono valide se i flaconi sono aperti solamente per il tempo di prelevare la quantità desiderata, richiusi immediatamente con il proprio tappo e conservati alla temperatura indicata.

Indice di deterioramento dei reagenti: presenza di particelle e torbidità.

7.0 PRECAUZIONI

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è comunque opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste per il comportamento in laboratorio.

8.0 MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Bagno termostatico a 37°C.

Spettrofotometro o fotometro termostabile a 37°C con filtro a 340 nm .

Micropipette automatiche. Cuvette in vetro ottico o monouso in polistirolo ottico. Soluzione fisiologica.

9.0 PROCEDIMENTO MANUALE

Portare i reagenti e il fotometro (portacuvette) a 37°C.

9.1 Condizioni del dosaggio:

Lungh.d'onda: 340 nm

Temperatura: 37°C

Cammino ottico: 1 cm

- Portare i reagenti e il fotometro (portacuvette) a 37°C.
- Azzerare lo strumento con acqua distillata.
- Pipettare in cuvetta:

Reagente A	1000 µL
Calibratore o Campione	10 µL

- Mescolare e leggere l'assorbanza (A1) all'aggiunta del campione immediatamente, pipettare nella cuvetta:

4. Mescolare e leggere l'assorbanza (A2) dei calibratori e dei campioni esattamente 2 minuti dopo l'aggiunta del campione.

N.B. Sono disponibili su richiesta le applicazioni per i più comuni analizzatori automatici.

10.0 CALCOLO DEI RISULTATI

Calcolare le differenze di ass. (A2-A1) di ciascun punto della curva di calibrazione e riportare su una curva i valori ottenuti contro le concentrazioni di ciascuna diluizione del cal. La conc. di IgA nel campione si ottiene interpolando il valore (A2-A1) sulla curva.

11.0 CONTROLLO DI QUALITA' - CALIBRAZIONE

Si consiglia di utilizzare Sieri di Controllo per monitorare le performance dei procedimenti dei dosaggi manuali e automatici. Sono disponibili i sieri di controllo per plasmaproteine. Sono disponibili separatamente al kit i seguenti Calibratori e Controlli :

101346 Plasmaproteine Calibratore

101347 Plasmaproteine Controllo

Ogni laboratorio deve stabilire il proprio schema di Controllo Qualità e adottare azioni correttive nel caso che i controlli non danno risultati accettabili.

12.0 PRESTAZIONI DEL TEST

12.1 Linearità. fino a 100 mg/dL (nota 1), alle condizioni descritte nel procedimento. Campioni con conc. più elevate devono essere diluiti 1/5 con NaCl 9 g/L e ridosati. Il limite di linearità dipende dal rapporto campione/reagente, e dallo strumento usato. Tale limite sarà più alto diminuendo il volume del campione, anche se la sensibilità del test diminuirà proporzionalmente.

12.2 Limite di detenzione. valori inferiori a 0.5 mg/dL danno risultati non-riproducibili.

12.3 Effetto Prozona. nessun effetto prozona viene rilevato fino a 200 mg/dL.

12.4 Sensibilità. □□□□□ mA. a 340 nm corrisponde a 1 mg/dL di C4 alla concentrazione di 47.6 mg/dL .

12.5 Precisione

Media mg/dL	Intra-assay (n=10)		Inter-assay (n=10)	
	63	178	63	178
SD	1.93	4.00	2.65	7.17
CV	3.07	2.25	4.21	4.03

12.6 Interferenze. Bilirubina (10 mg/dL), emoglobina (4 g/L) non danno interferenze. Fattori reumatoidi possono interferire a 300 IU/mL. Altre sostanze possono dare interferenze.

13.0 CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

Il prodotto è destinato all'utilizzo all'interno di laboratori di analisi professionali. Per un corretto smaltimento dei rifiuti, fare riferimento alla normativa vigente.

S56: smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta rifiuti pericolosi o speciali autorizzati.

S57: usare contenitori adeguati per evitare l'inquinamento ambientale.

S61: non disperdere nell'ambiente. Riferirsi alle istruzioni speciali/schede informative in materia di sicurezza.

14.0 BIBLIOGRAFIA

- Clin. Guide to Lab. Tests, Edited by NW Tietz w b Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Skoug John W et al. Clin. Chem. 1988;34/2:309-315.
- Pesce AJ and Kaplan, LA Methods in Clin. Chem. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Dati F et al. Eur J Clin. Chem. Clin. Biochem. 1966;14:401-406.
- Young DS. Effects of disease on clinical laboratory test, 3rd ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACC Press, 1997.

15.0 LEGENDA SIMBOLI – DIRETTIVA 98/79/CE

	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso		N° determinazioni per kit		Fabbricante
	Solo per uso diagnostico in vitro		Usare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero del lotto		Codice #

MEDIA DIAGNOSTICI SRL
VIA COSTIERA 31D/E - 47100 FORLI FC
TEL 0543 782.786 - FAX 0543 782.787

