Complemento C4 FS *

Reactivo para la determinación cuantitativa *In Vitro* del factor del complemento C4 en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase					
1 1812 99 10 930	R1	4 x	20 mL	+ R2	2 x	8 mL
1 1812 99 10 935	R1	2 x	20 mL	+ R2	1 x	8 mL
5 9200 99 10 037		3 x	1 mL	TruCal Proteína alto		
5 9200 99 10 039		5 x	1 mL	TruCal Proteína: Set calibrador con 5 niveles de concentración		

Sumario [1,2]

El sistema del complemento está compuesto por al menos 20 plasmaproteínas y algunas proteínas receptoras, que interaccionan en una cascada proteolítica regulada con el fin de destruir las bacterias exógenas e impedir la acumulación de complejos inmunitarios. La activación del sistema del complemento causa una reducción de las concentraciones de C3 y/o C4 a causa del consumo de las proteínas intactas. La cascada del complemento puede activarse de dos maneras: la reacción clásica la inician los complejos inmunitarios o los anticuerpos unidos a bacterias o virus. La cascada comienza con la unión del componente C1q del C1 a la región Fc del anticuerpo y activa el C3 a través de la proteólisis del C4. La reacción alternativa se inicia, independientemente de los anticuerpos, a través de microorganismos, polisacáridos o mediante la autólisis del C3 o los complejos inmunitarios agregados. Para iniciar la reacción alternativa no es necesaria la proteína C4. Dado que el C3 participa en ambas reacciones, un descenso en las concentraciones de C3 indica una activación general del complemento. La reducción en los valores de C3 se observa en las inflamaciones y las infecciones, especialmente en la glomerulonefritis y en el lupus eritematoso sistémico (LES) En función de la reacción iniciada, la concentración de C4 puede estar reducida o ser normal. Se observa la disminución en las concentraciones de C4 sin la reducción simultánea de las concentraciones de C3 en los edemas angioneuróticos hereditarios o adquiridos. Se han descrito estados hereditarios de carencia de ambos factores del complemento.
El C3 y el C4 reaccionan también como proteína de la fase aguda. Un aumento causado por un proceso inflamatorio puede enmascarar un consumo ligeramente elevado del sistema del complemento.

Método

Test inmunoturbidimétrico

Principio

Determinación de punto final del C4 mediante medición fotométrica de la reacción antígeno-anticuerpo entre anticuerpos contra C4 y el C4 contenido en la muestra.

Reactivos

Componentes y concentraciones

R1:	TRIS	pH 7,5	100 mmol/L
	NaCl		320 mmol/L
	Polietilenglicol (PEG)		
	Detergentes, estabilizadores		
R2:	TRIS	pH 8,0	100 mmol/L
	NaCl		300 mmol/L
	Anticuerpos (cabra) contra C4 humano con estabilizadores		

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 2 a 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. No se deben congelar los reactivos.

Advertencias y medidas de precaución

1. Los reactivos contienen azida de sodio (0,95 g/L) como preservo. No ingerir. Evitar el contacto con la piel y las mucosas.
2. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio.

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación de los reactivos

Los reactivos ya están listos para usar.

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Muestras [3]

Suero, plasma (heparina o EDTA)
Durante el almacenamiento, las proteínas de C3 y C4 se descomponen lentamente en sus componentes C3c y C4 (la fragmentación se evita con EDTA). Los fragmentos aún contienen los epitopos reactivos y pueden presentar incluso señales más fuertes que las de la proteína intacta. Dependiendo de las condiciones de este proceso de envejecimiento, las muestras recientes de suero pueden presentar valores de C3 hasta un 30 % más bajos que las muestras que fueron conservadas 8 días entre 2 y 8 °C. La fragmentación de C4 es más lenta que la de C3; en condiciones similares sólo se han observado valores más bajos en un 15 %.
¡Desechar las muestras contaminadas!

*Fluid Stable = líquido estable

Esquema de la prueba para equipos automáticos de análisis

Hay disponibles, a petición, aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	340 nm
Paso óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Método de medida	Respectivo blanco de reactivo

	Blanco	**Muestra o calibrador**
Muestra o calibrador	-	10 µL
Agua destilada	10 µL	-
Reactivo 1	350 µL	350 µL
Mezclar, incubar 3 – 5 min., leer la absorbancia A1 y, a continuación, añadir:		
Reactivo 2	70 µL	70 µL
Mezclar, incubar 5 minutos y leer la absorbancia A2.		

$\Delta A = (A2 - A1)$ muestra o calibrador

Cálculo

La concentración de C4 de muestras desconocidas se calcula mediante una curva de calibración y empleando un modelo matemático adecuado, del tipo logit/Log o spline. La curva de calibración se establece con cinco calibradores de diversa concentración y con solución de NaCl (9 g/L) para determinar el punto cero.
Estabilidad de la calibración: 4 semanas

Calibradores y controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automáticos se recomienda utilizar el set calibrador DiaSys TruCal Proteína o el calibrador TruCal Proteína alto.
Los valores de calibración se han obtenido a partir del material de referencia IFCC/BCR/CAP para 14 plasmaproteínas CRM 470.
Para el control de calidad interno debe analizarse un control DiaSys TruLab Proteína con cada serie de muestras.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruLab Proteína Nivel 1	5 9500 99 10 046	3 unidades de 1 mL
TruLab Proteína Nivel 2	5 9510 99 10 046	3 unidades de 1 mL

Características

Rango de medida

El test tiene un rango de medida de 0,6 – 90 mg/dL (0,006 – 0,9 g/L) (dependiendo del calibrador más alto). Si se sobrepasan estos valores, es preciso diluir las muestras en una proporción 1+1 con disolución de NaCl (9 g/L) y multiplicar por 2 el resultado.

Efecto prozona

Hasta concentraciones de C4 de 180 mg/dL (1,8 g/L) no se ha podido constatar la presentación del efecto prozona.

Especificidad/Interferencias

Gracias a sus anticuerpos, DiaSys Complemento C4 es un inmunoensayo específico para C4 humano. No aparecen interferencias con bilirrubina conjugada y no conjugada hasta 60 mg/dL, con hemoglobina hasta 1000 mg/dL, con lipidemia hasta 2000 mg/dL de triglicéridos y con FR hasta 1200 IU/mL.
No aparecen interferencias con gamopatías monoclonales hasta 6400 mg/dL IgA, 4100 mg/dL IgM y 6400 mg/dL IgG.

Sensibilidad del test/límite de prueba

El límite inferior de prueba es 0,6 mg/dL (0,006 g/L).

Imprecisión

En la serie n = 20	Valor medio (VM) [mg/dL]	Variación estándar [mg/dL]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	27,2	0,895	3,29
Muestra 2	42,4	1,64	3,87
Muestra 3	55,2	1,34	2,43

De un día a otro n = 20	Valor medio (VM) [mg/dL]	Variación estándar [mg/dL]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	28,6	0,959	3,35
Muestra 2	39,7	0,965	2,43
Muestra 3	52,3	1,62	3,10

La precisión total de acuerdo con el protocolo EP-5 del NCCLS (National Committee of Clinical Laboratory Standards) es:

Precisión total n = 40	Valor medio (VM) [mg/dL]	Variación estándar [mg/dL]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	28,9	0,983	3,40
Muestra 2	40,2	1,073	2,67

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys Complemento C4 FS (y) con otro test inmunoturbidimétrico (x) se obtuvieron los siguientes resultados con 107 muestras:
y = 0,97 x – 0,053 mg/dL; r = 0,984.

En la comparación con un test nefelométrico (x) se obtuvieron los siguientes resultados con 92 muestras:
y = 1,12 x – 0,21 mg/dL; r = 0,975.

Rango de referencia [4]

10 - 40 mg/dL (0,1 – 0,4 g/L)

Cada laboratorio debería comprobar la adecuación de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1ª ed., Francfort: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. pp. 794-806.
2. Johnson AM, Rohlfs EM, Silverman LM. Proteins. En: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz textbook of clinical chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W. B. Saunders Company; 1999. pp. 507-12.
3. Okumura N, Nomura M, Tada T et al. Effects of sample storage on serum C3c assay by nephelometry. Clin Lab Sci 1990; 3(1): 54-57
4. Dati F, Schumann G, Thomas L, Aguzzi F, Baudner S, Bienvenu J et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP reference material (CRM 470). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:517-20.

Fabricado por

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania