

**Método inmunturbidimétrico para la determinación del componente C4 del complemento****SIGNIFICACION CLINICA**

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

**FUNDAMENTOS DEL METODO**

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.
- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

**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 REACCION**

- 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 Calibrador Proteínas nivel alto: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 y 1:160, empleando solución fisiológica como punto cero.

<b>Calibrador Proteínas diluido</b>	150 ul
-------------------------------------	--------

<b>Reactivo A</b>	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:

<b>Reactivo B</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 Calibrador Proteínas, 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 Calibrador Proteínas.

#### PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

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

<b>Muestra diluida</b>	150 ul
------------------------	--------

<b>Reactivo A</b>	900 ul
-------------------	--------

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

<b>Reactivo B</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.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta diferencia ( $\Delta A$ ) 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 Calibrador Proteínas nivel alto, deben ser diluidas 1:2 con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por dos.

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de **Control Inmunológico nivel 1** o **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** de Wiener lab. 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.

#### CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

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

#### 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	$\pm 0,49$ mg/dl	1,5 %
36,9 mg/dl	$\pm 1,21$ 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.

#### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

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

Para la calibración, se debe utilizar **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

#### PRESENTACION

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B  
(Cód. 1513265)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B  
(Cód. 1009343)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B  
(Cód. 1009216)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B  
(Cód. 1009644)

#### BIBLIOGRAFIA

- 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

# Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



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 / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
Cert. Nº: 4296/01



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina