

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

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 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.

Calibrador Proteínas 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 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.

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.

CALCULO 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 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 Turbistest 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	$\pm 0,49 \text{ mg/dl}$	1,5 %
36,9 mg/dl	$\pm 1,21 \text{ mg/dl}$	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 Turbistest 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)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B
(Cód. 1009952)*

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, 4th ed., 2001.

**Método imunoturbidimétrico para a determinação do componente C4 do complemento****SIGNIFICADO CLÍNICO**

O C4 é uma β -1-proteína componente do complemento. Níveis séricos baixos se observam em doenças como lúpus sistêmico, doenças hereditárias e infecções a 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
- **Calibrador Proteínas nível alto Turbitest AA** da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". 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 descartadas conforme à 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-se conservar sob refrigeração perfeitamente fechados. Não congelar.

AMOSTRA

Soro ou plasma com heparina

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

b) Aditivos: caso que a amostra a ser analisada seja plasma, recomenda-se não utilizar heparina em excesso como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não utilizar

soros hemolisados ou contaminados.

Não se observam interferências por bilirrubina até 20 mg/dl, triglicerídeos até 500 mg/dl nem hemoglobina até 10 g/dl. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

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

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 Calibrador Proteínas nível alto: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 e 1:160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

Calibrador Proteínas diluído	150 ul
-------------------------------------	--------

Reagente A	900 ul
-------------------	--------

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO₁) 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 (DO₂) zerando o aparelho com água destilada. Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada diluição do Calibrador Proteínas, incluindo o ponto zero.

Representar numa folha de papel marcada com milímetros as diferenças de absorbância ΔA em função da concentração em mg/dl (g/l) do Calibrador Proteínas.

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.

Nível	D.P.	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) Faixa dinâmica: podem-se obter valores entre a concentração do calibrador mais baixa e mais alta da curva de calibração (envolta 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-se utilizar **Calibrador Proteínas nível alto** da Wiener lab.

APRESENTAÇÃO

- 1 x 60 ml Reagente A
1 x 5 ml Reagente B
(Cód. 1513265)

- 1 x 60 ml Reagente A
1 x 5 ml Reagente B
(Cód. 1009343)

- 1 x 60 ml Reagente A
1 x 5 ml Reagente B
(Cód. 1009216)

- 1 x 60 ml Reagente A
1 x 5 ml Reagente B
(Cód. 1009644)

- 1 x 60 ml Reagente A
1 x 5 ml Reagente B
(Cód. 1009952)*

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", AACCC Press, 4th ed., 2001.

CÁLCULOS 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 Calibrador Proteínas nível alto devem ser diluídas 1:2 com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos por dois.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

É recomendado o uso de **Control Imunológico nível 1** ou **Control Imunológico nível 2 Turbitest AA** da Wiener lab. O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

VALORES DE REFERÊNCIA

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

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

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

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

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 absorbâncias maiores ao calibrador mais alto da curva de calibração, deverão ser diluídas e ensaiadas novamente. A concentração de C4 para estas amostras obtém-se multiplicando o resultado obtido pelo fator de diluição correspondente.

DESEMPENHO

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

**Immunoturbidimetric method for the determination of C4 complement's component****SUMMARY**

C4 is a β -1-protein that constitutes a complement's component. Low levels in serum are found in systemic lupus, hereditary diseases and repetitive infections.

PRINCIPLE

Complement's C4 protein reacts with the specific antibody anti-C4 generating insoluble immune complexes. The turbidity produced by these immune complexes is proportional to the C4 concentration in the sample, and can be measured spectrophotometrically.

PROVIDED REAGENTS

- A. Reagent A:** buffered saline solution, pH 7.35 ± 0.10 .
- B. Reagent B:** antibody monospecific to C4.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline solution.
- Wiener lab.'s **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA**.

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use. All samples from patients should be handled as capable of transmitting infection. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories. The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. After bottles' opening, store them hermetically capped at 2-10°C. Do not freeze.

SAMPLE

Serum or heparinized plasma.

- a) Collection:** obtain in the usual way.
- b) Additives:** if plasma is used, it is not recommended to use excess levels of heparin as anticoagulant.
- c) Known interfering substances:** do not use contaminated or hemolyzed sera.

No interferences are observed by bilirubin up to 20 mg/dl, triglycerides up to 500 mg/dl, and hemoglobin up to 10 g/dl. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: the serum should be preferably fresh. In case the test cannot be performed on the day, the sample should be stored for up to 48 hours in refrigerator (2-10°C). In case the test cannot be performed within this period, it should be immediately stored at -20°C.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Spectrophotometric cuvettes.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Kahn or hemolysis tubes.
- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm
- Reaction temperature: room temperature (25°C). Temperature control is not critical, it can range between 22 and 30°C.
- Reaction time: 30 minutes

PROCEDURE**CALIBRATION CURVE**

In Kahn tubes dilute the Calibrador Proteínas nivel alto with saline solution 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160, using saline solution as the zero point.

Diluted Calibrador Proteínas	150 ul
Reagent A	900 ul

Homogenize and measure absorbance of each dilution at 340 nm (OD_1), setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:

Reagent B	120 ul
------------------	--------

Mix and incubate 30 minutes at room temperature. Measure absorbance at 340 nm (OD_2), setting the instrument to zero with distilled water. Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each Calibrador Proteínas dilution, including the zero point. Draw on graph paper the ΔA absorbance differences ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) based on the Calibrador Proteínas concentration in mg/dl (g/l).

SAMPLES PROCEDURE

Dilute the samples 1:10 with saline solution.

Diluted Sample	150 ul
-----------------------	--------

Reagent A	900 ul
Homogenize and measure absorbance at 340 nm (OD ₁), setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:	
Reagent B	120 ul
Mix and incubate 30 minutes at room temperature. Measure absorbance at 340 nm (OD ₂), setting the instrument to zero with distilled water.	

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each tested sample. Interpolate this ΔA in the calibration curve to determine the concentration in mg/dl (g/l) corresponding to the sample under study. Samples with absorbance values higher than the absorbance measurement for **Calibrador Proteínas nivel alto** should be diluted 1:2 with saline solution and retested. Multiply the obtained result by 2.

QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab.'s **Control Inmunológico nivel 1** or **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA**.

The Control should be processed in the same manner as samples.

REFERENCE VALUES

10 - 40 mg/dl (0.1-0.4 g/l)

Each laboratory should set its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

C4 (mg/dl) x 10 = C4 (mg/l)

PROCEDURE LIMITATIONS

Turbidity and particles in the sample may interfere with the test. Therefore, the particles that may be the result of an incomplete coagulation or protein denaturalization should be removed by centrifugation before testing the sample.

The samples showing higher absorbance values than the highest point on the calibration curve should be diluted and retested. C4 concentration for such samples is obtained multiplying the obtained result by the corresponding dilution factor.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: simultaneously processing 20 replicates of the same sample, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
32.3 mg/dl	± 0.49 mg/dl	1.5 %
36.9 mg/dl	± 1.21 mg/dl	3.3 %

b) Dynamic range: values can be obtained between the lowest and highest calibrator concentrations of the calibration curve (70 mg/dl approximately).

c) Detection limit: the minimum detectable concentration change of C4 is 5 mg/dl.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

Refer to the specific applications of each autoanalyzer. For calibration must be used Wiener lab's **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** following the autoanalyzer requirements.

WIENER LAB. PROVIDES

- 1 x 60 ml Reagent A
1 x 5 ml Reagent B
(Cat. N° 1513265)

- 1 x 60 ml Reagent A
1 x 5 ml Reagent B
(Cat. N° 1009343)

- 1 x 60 ml Reagent A
1 x 5 ml Reagent B
(Cat. N° 1009216)

- 1 x 60 ml Reagent A
1 x 5 ml Reagent B
(Cat. N° 1009644)

- 1 x 60 ml Reagent A
1 x 5 ml Reagent B
(Cat. N° 1009952)*

REFERENCES

- 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.



C4

Nr kat. 1513265 Nr kat. 1009644
 Nr kat. 1009343 Nr kat. 1009952
 Nr kat. 1009216

Immunoturbidymetryczna metoda do ilościowego oznaczenia składnika C4 dopełniacza

WSTĘP

C4 jest białkiem α -1, które stanowi składnik dopełniacza. Niski poziom w surowicy krwi obserwuje się w toczniu rumieniowatym układowym, chorobach dziedzicznych i nawracających infekcjach.

ZASADA DZIAŁANIA

Białko C4 dopełniacza reaguje ze specyficznym przeciwciałem przeciw C4 tworząc nierozpuszczalny kompleks immunologiczny. Zmętnienie powstające w tym procesie jest proporcjonalne do stężenia białka C4 w badanym materiale i może być mierzone spektrofotometrycznie.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: buforowany roztwór soli fizjologicznej, pH 7,35 \pm 0,10.

B. Odczynnik B: monospecyficzne przeciwciało przeciw C4.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Roztwór soli fizjologicznej.
 - **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** Wiener lab.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro". Każdy materiał badany pobrany od pacjenta powinien być traktowany jako potencjalnie zakaźny. Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych. Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Po otwarciu butelki przechowywać hermetycznie zamknięte w lodówce. Nie zamrażać.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze heparynizowane.

a) Pobranie: pobrać w klasyczny sposób.

b) Substancje dodatkowe: jeśli materiałem jest osocze nie zaleca się zastosowania nadmiernej ilości heparyny jako antykoagulantu.

c) Znane interakcje: nie używać zanieczyszczonej lub hemolizowanej surowicy krwi.

Nie obserwowano interakcji z bilirubiną do poziomu 20 mg/dl, trójglicerydami do 500 g/l, lub hemoglobina do 10 g/dl. Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: surowica krwi powinna być świeża. W przypadku gdy badanie nie może zostać wykonane w tym samym dniu, materiał badany może być przechowywany do 48 godzin w lodówce (2-10°C). Jeśli badania nie można przeprowadzić w tym czasie należy materiał natychmiast po pobraniu zamrozić i przechowywać w temp. -20°C.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr.
- Kuwety spektrofotometryczne.
- Mikropipety i pipety do pomiaru określonej objętości
- Probówki Kahna lub do hemolizy.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 340 nm
- Temperatura reakcji: temperatura pokojowa (25°C). Temperatura nie jest krytyczna dla reakcji, może wahać się pomiędzy 22 a 30°C.
- Czas reakcji: 30 minut

PROCEDURA

KRZYWA KALIBRACJI

W probówkach Kahna'a rozpuścić Calibrador Proteínas nivel alto solą fizjologiczną w stosunku 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 oraz 1:160, używając soli fizjologicznej jako punktu zero.

Rozcieńczony Calibrador Proteínas	150 ul
--	--------

Odczynnik A	900 ul
--------------------	--------

Homogenizować i odczytać absorbancję każdego rozcieńczenia przy 340 nm (OD_1), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać:

Odczynnik B	120 ul
--------------------	--------

Zamieszać i inkubować 30 minut w temperaturze pokojowej. Odczytać absorbancję przy 340 nm (OD_2), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej.

Obliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdego rozcieńczenia Calibrador Proteínas, włącznie z punktem zero. Na papierze milimetrowym narysować zmianę różnicy absorbancji ΔA ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) wobec stężenia Calibrador Proteínas w mg/dl (g/l).

PROCEDURA DLA MATERIAŁU BADANEGO

Rozcieńczyć próbki 1:10 solą fizjologiczną.

Rozcieńczony materiał badany 150 ul

Odczynnik A 900 ul

Homogenizować i odczytać absorbancję przy 340 nm (OD_1), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać:

Odczynnik B 120 ul

Zamieszać i inkubować 30 minut w temperaturze pokojowej. Odczytać absorbancję przy 340 nm (OD_2), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej.

OBLICZENIA

Obliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdej próbki badanej. Nanieść ΔA na krzywą kalibracji celem wyznaczenia stężenia w mg/dl (g/l) odpowiadającego każdej badanej próbce. Materiał badany o absorbancji powyżej najwyższego kalibratora na krzywej kalibracji należy rozcieńczyć 1:2 solą fizjologiczną i powtórzyć badanie. Pomnożyć otrzymane wyniki przez 2.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA Wiener lab.

Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA Wiener lab.

Procedura dla Próby kontrolnej jest dokładnie taka sama jak dla materiału nieznanego.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

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

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

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

OGRANICZENIA PROCEDURY

Zmętnienie lub cząstki w materiale badanym mogą wpływać na test. Takie cząstki mogą być wynikiem niepełnego krzepnięcia lub denaturalizacji białek i należy je usunąć przez odwirowanie przed badaniem próbki.

Materiał badany o absorbancji powyżej absorbancji Calibrador Proteínas nivel alto należy rozcieńczyć i powtórzyć badanie. Wartości stężeń białka C4 dla takich próbek materiału należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: równocześnie wykonano 20 powtórzeń testu tego samego materiału badanego. Otrzymano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	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) Zakres dynamiczny: wartości zawierają się pomiędzy najniższym i najwyższym stężeniem kalibratora na krzywej kalibracji (około 70 mg/dl).

c) Granica wykrywalności: najmniejsza wykrywalna zmiana stężenia dla C4 wynosi 5 mg/dl.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się ze specyfikacją danego analizatora automatycznego. Do kalibracji zastosować Calibrador Proteínas nivel alto Wiener lab., zgodnie ze specyfikacją analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA

- 1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1513265)

- 1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009343)

- 1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009216)

- 1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009644)

- 1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009952)*

ŹRÓDŁA

- 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 // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrące

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator

 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Tec.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 4296/01



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina