КОМПЛЕМЕНТ C4 (complement C4) 1102104

Турбидиметрический метод для количественного определения комплемента C4.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1102104 R1 буфер 1x40 мл, R2 антитела 1x10 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест на C4 – это количественный иммунотурбидиметрический тест для определения комплемента C4 в сыворотке или плазме человека. Антитела к C4 при добавлении к пробам, содержащим C4, образуют нерастворимые комплексы. Эти комплексы вызывают изменение абсорбции пропорционально концентрации C4 в пробе пациента. Расчет производится с помощью построения многоточечной калибровочной кривой по нескольким калибраторам.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ[1]

C4 – это второй компонент, реагирующий в классическом пути активации комплемента. Основной синтез его происходит в клетках перенхимы печени, хотя также может производиться в моноцитах и других клетках.

Уровни C4 в плазме умеренно повышаются вследствие травмы, воспаления или тканевого некроза (процесс острофазовогго ответа).

Наследственный первичный дефицит связан с высокой предрасположенностью к аутоиммунным или коллагено-сосудистым заболеваниям, особенно к системной красной волчанке (СКВ). Также Уровни C4 более значительно снижаются при потреблении вследствие образования иммунных комплексов.

РЕАГЕНТЫ

R1 дилюент	ТРИС-буфер 20ммоль/л, ПЭГ 8000, pH 8,2. Азид натрия 0,95 г/л.
R2 антитела	Козья сыворотка, Антитела к человеческому C4, pH 7.5. Азид натрия 0,95 г/л.
Дополнительно: не входит в набор	Калибратор протеинов (PROT CAL), кат.№ 1102003.

КАЛИБРОВКА

Тест был стандартизован по Референсному Материалу CRM 470/RPPHS (Институт Референсных Материалов и Измерений, IRMM). Для калибровки рекомендуется использовать Калибратор протеинов (PROT CAL), кат.№ 1102003.

ПОДГОТОВКА

Реагенты: готовы к использованию.

Калибровочная кривая: Подготовьте следующие разведения калибратора протеинов в физрастворе (NaCl 9г/л). Умножьте концентрацию C4 в калибраторе на соответствующий коэффициент, приведенный в таблице, для получения концентрации C4 каждого разведения.

Стандарты	1	2	3	4	5	6
Калибратор (мкл)	–	10	25	50	75	100
NaCl 9г/л (мкл)	100 мкл	90 мкл	75 мкл	50 мкл	25 мкл	–
Концентрация	0	0,1xC	0,25xC	0,5xC	0,75xC	1,0xC

Концентрация калибратора указана в инструкции к калибратору протеинов (**C**).

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора табильны вплоть до указанной на этикетке даты (Expiration Date) при хранении в плотно закрытом флаконе при 2-8°C с предотвращением контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов: присутствие частиц или мутности.

Не замораживайте, замороженные антитела или дилюент могут изменять функциональную активность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Термостат с 37°C.
- Спектрофотометр или термостатируемый анализатор (37°C) с фильтром 340нм (320–360нм).

ПРОБЫ

Свежая сыворотка или плазма. В качестве антикоагулянта должны быть использованы ЭДТА или гепарин. Стабильность 7 дней при 2-8°C или 3 месяца при –20°C. Пробы с фибрином должны быть центрифугированы. Не используйте гемолизированные или липемические пробы.

ПРОЦЕДУРА

1. Доведите реагенты и анализатор (держатель кюветы) до 37°C.
2. Условия теста:
   Длина волны: 340 нм (320–360нм).
   Температура: 37°C.
   Оптический путь: 1см
   Метод: кинетика по фиксир. времени по многоточечной калибровке,
   время задержки 3с, время реакции – 120с.
3. Установите прибор на ноль по дистиллированной воде.
4. Отдозируйте в кюветы:

	Метод	Микрометод	ChemWell
Реагент R1 (мкл)	400 мкл	200 мкл	160 мкл
Калибраторы (мкл)	20 мкл	10 мкл	8 мкл
Проба (мкл)	20 мкл	10 мкл	8 мкл

5. Перемешайте, измерьте абсорбцию (A1) при 340 нм после добавления пробы.
6. Затем немедленно пипетируйте в кюветы:

Реагент R2 (мкл)	100 мкл	50 мкл	40 мкл

7. Перемешайте и *точно* через 2 минуты после добавления R2 измерьте абсорбцию (A2).

Реагенты могут быть использованы с различными автоматическими биохимическими анализаторами или в ручных процедурах на фотометрах с подходящей длиной волны. **У Spinreact есть адаптации к различным автоматическим анализаторам, которые доступны по запросу**.

РАСЧЕТЫ

Рассчитайте изменение абсорбции (ΔA=A1–A2) для каждой точки калибровочной кривой (каждого стандарта) и постройте калибровочную кривую зависимости концентрации каждого стандарта от его изменения абсорбции. Концентрация C4 в пробе рассчитывается интерполяцией ее ΔA к калибровочной кривой.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля характеристик ручных и автоматических процедур рекомендуется использовать контрольную сыворотку Spinreact PROT CONTROL (кат.№: 1102004). Каждая лаборатория должна представить свою собственную схему контроля качества и действия по исправлению, если контроли вне приемлемых диапазонов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[2]

Новорожденные: **13 – 38 мг/дл**
Взрослые: **10 – 40 мг/дл**

Каждая лаборатория должна представить свой референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. ***Линейность***: до 1000 мг/дл (Примечание 1), при описанных выше условиях. Пробы с большими концентрациями должны быть разведены 1/5 физраствором (NaCl 9г/л) и тестированы повторно, результат умножить на 5. Предел линейности зависит от соотношения проба/реагент. Он будет повышаться при снижения объема сыворотки, при этом также будет пропорционально снижаться чувствительность.
2. ***Определяемый уровень***: Значения ниже 1 мг/дл дают невоспроизводимые результаты.
3. ***Эффект прозоны***: Не наблюдается эффекта прозоны до 500 мг/дл.
4. ***Чувствительность***: Δ 3,76 мА / мг/дл (5 мг/дл); Δ 12,9 мА / мг/дл (37 мг/дл).
5. ***Воспроизводимость***:

	Внутри серии тестов (n=10)		
Среднее (мг/дл)			
SD			
CV %			

Между сериями тестов (n=10)		

6. ***Правильность***: результаты, полученные с помощью этого теста (y) при сравнении с другими, полученными с использованием коммерческих реагентов (x) с похожими характеристиками, не давали систематических различий.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференции с гемоглобином (до 10 г/л), билирубином (до 40 мг/дл) и ревматоидными факторами (до 600 МЕ/мл). Липемия (>1,25 г/л) дает интерференцию. Другие вещества также могут влиять[6,7].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Линейность зависит от концентрации калибратора.
2. Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одиночного теста; он должен быть основан на совокупности клинических и других лабораторных данных.

ЛИТЕРАТУРА:

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