

## Quantitative determination of complement C4 (C4) IVD

Store 2 - 8°C.

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-human C4 antibodies when mixed with samples containing C4, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the C4 concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known C4 concentration.

### CLINICAL SIGNIFICANCE<sup>1</sup>

C4 is the second component reacting in the classical pathway cascade. Most synthesis occurs in the hepatic parenchymal cells, although some may be synthesized by monocytes or other tissues. C4 levels in plasma rise modestly after trauma or inflammation and tissue necrosis (acute phase process). Inherited primary deficiency of C4 is associated with a high prevalence of autoimmune or collagen vascular disease, particularly Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Also, levels of C4 are more commonly depressed because of consumption as a consequence of formed immune-complexes.

### REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8,3. Preservative.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human C4, pH 7,5. Preservative.
Optional	Cod: 1102003 PROT CAL.

### CALIBRATION

The assay is calibrated to the Reference Material ERM-DA470k/IFCC. It must be used the PROT CAL to calibrate the reagent.

### PREPARATION

**Reagents:** Ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date. Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity. Do not use. Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- SPIN640 / SPIN640Plus autoanalyzer
- Laboratory equipment.

### SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C. The samples with presence of fibrin should be centrifuged. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

### REFERENCE VALUES<sup>5</sup>

Neonates: Between 13 - 38 mg/dL.  
Adults: Between 10 - 40 mg/dL.  
Each laboratory should establish its own reference range.

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Cod.:1102004). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### NOTES

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

**BARCODED REAGENTS LOAD MUST BE PRECEDED OF A SPINREACT "DATABASE" COPY INTO THE ANALYZER SOFTWARE. IT IS AVAILABLE UNDER REQUEST TO SPINREACT.**

### SPIN640 APPLICATION

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
Nº	**	Vol. R1	240	
Test	C4	Vol. R2	60	
Full Name	COMPLEMENT C4	Vol. R3		
Standard nº	6	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	6	Decimal	1 Slope 1	
Vol. Sample Inceas.		Unit	mg/dL Inter. 0	
Vol. Sample Dec				
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	20-21	
Sec. Wave.		React. Time	56-57	
CALIBRATION DILUTION (5 CAL + 1 WATER BLANK)				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
Nº CAL DIL	CONCENTRATION	SAMPLE DIL	VOL DIL	VOL SAMPLE
0	CAL *0.1	10.0	90.0	6.0
1	CAL *0.25	30.0	90.0	6.0
2	CAL *0.4904	30.0	90.0	12.0
3	CAL *0.7217	30.0	90.0	18.0
4	CAL	0.0	0.0	6.0

### SPIN640Plus APPLICATION

EDIT PARAMETERS			
Test	C4	No.	**
Full name	C4	Print name	C4
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	340	Sec. Wave.	
Unit	mg/dL	Decimal	0
Reagent Blank	20-21	React. Time	63 - 64
Vol. Sample	6 ul	R1	240 ul
Increased		R2	60 ul
Decreased		R3	
Sample blank		R4	
CALIBRATION			
Spline	Water	0	
Calibrator	*0.1	6	13 115
Calibrator	*0.25	6	35 105
Calibrator	*0.489	12	35 105
Calibrator	*0.735	18	35 105
Calibrator	(*)Cal Value	6	-- --

The Calibration is stable until **31 days**. After this period the Calibration must be performed again in order to obtain good results.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Measurement range: Up to 75 mg/dL, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and re-tested again. The linearity limit and measurement range depends on the sample to reagent / ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
- Detection Limit: Values less than 1 mg/dL give non-reproducible results.
- Prozone effect: No prozone effect was detected upon 500 mg/dL.
- Sensitivity:  $\Delta$  23,6 mA. mg/dL (5 mg/dL),  $\Delta$  12,9 mA. mg/dL (37mg/dL).
- Precision: The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study.

EP5	CV (%)		
	8,57 mg/dl	22,46 mg/dl	42,98 mg/dl
Total	3,9%	2,4%	1,9%
Within Run	1,6%	1%	1%
Between Run	2,2%	1,6%	1,1%
Between Day	2,8%	1,4%	1,2%

- Accuracy: Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using an immunoturbidimetric method from Bayer. 46 samples ranging from 9 to 60 mg/dL of C4 were assayed. The correlation coefficient (r) was 0,97 and the regression equation  $y = 1,16x - 1,9$ .

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

### BIBLIOGRAPHY

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

### PACKAGING

Ref.: MD1102104 Cont. R1.Diluent: 2 x 40 mL  
R2.Antibody: 1 x 20 mL

## Determinación cuantitativa del complemento C4 (C4) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

### PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos anti-C4 forman compuestos insolubles cuando se combinan con el C4 de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de C4 en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de C4 de concentración conocida.

### SIGNIFICADO CLINICO<sup>1</sup>

El complemento C4 es el segundo componente reactivo de la vía clásica de activación del complemento. Es una proteína sintetizada por el hígado, aunque también puede ser sintetizada por los monocitos u otros tejidos.

La concentración de C4 en plasma, aumenta como consecuencia de una respuesta de fase aguda (trauma, inflamación o necrosis tisular).

Una deficiencia genética completa induce una disminución de la concentración de C4 en plasma, asociada a una elevada prevalencia de enfermedades autoinmunes o colágeno-vasculares, particularmente, el Lupus Eritematoso Sistémico (SLE). También su concentración puede disminuir como consecuencia del consumo en la formación de complejos inmuno.

### REACTIVOS

<b>Diluyente (R1)</b>	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservante.
<b>Anticuerpo (R2)</b>	Suero de cabra, anti-C4 humana, pH 7,5. Conservante.
<b>Opcional:</b>	Cod: 1102003 PROT CAL.

### CALIBRACION

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el PROT CAL para la calibración.

### PREPARACION

**Reactivos:** Listos Para el uso.

### CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

**Indicadores de deterioro:** Presencia de partículas y turbidez.

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador SPIN640 / SPIN640Plus
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>4</sup>

Recién nacidos: Entre 13 - 38 mg/dL.

Adultos: Entre 10 - 40 mg/dL.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referenci

### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL cod: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

### NOTAS

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

**PARA LA CARGA DE REACTIVOS MEDIANTE EL CÓDIGO DE BARRAS SE DEBE PRECARGAR LA "BASE DE DATOS" DISPONIBLE BAJO SOLICITUD A SPINREACT.**

### APLICACIÓN AL SPIN640

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
Nº	**	Vol. R1	240	
Test	C4	Vol. R2	60	
Full Name	COMPLEMENT C4	Vol. R3		
Standard nº	6	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	6	Decimal	1 Slope 1	
Vol. Sample Increas.		Unit	mg/dL Inter. 0	
Vol. Sample Dec				
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	20-21	
Sec. Wave.		React. Time	56-57	
CALIBRATION DILUTION (5 CAL + 1 WATER BLANK)				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
Nº CAL DIL	CONCENTRATION	SAMPLE DIL	VOL DIL	VOL SAMPLE
0	CAL *0.1	10.0	90.0	6.0
1	CAL *0.25	30.0	90.0	6.0
2	CAL *0.4904	30.0	90.0	12.0
3	CAL *0.7217	30.0	90.0	18.0
4	CAL	0.0	0.0	6.0

### APLICACIÓN AL SPIN640Plus

EDIT PARAMETERS			
Test	C4	No.	**
Full name	C4	Print name	C4
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	340	Sec. Wave.	
Unit	mg/dL	Decimal	0
Reagent Blank	20-21	React. Time	63 - 64
Vol. Sample	6 ul	R1	240 ul
Increased		R2	60 ul
Decreased		R3	
Sample blank		R4	
CALIBRATION Spline Water 0			
Calibrator	*0.1	Vol aspirated	Vol net Vol dil
Calibrator	*0.25	6	13 115
Calibrator	*0.489	6	35 105
Calibrator	*0.735	12	35 105
Calibrator	(*Cal Value	18	35 105
		6	-- --

La Calibración es estable hasta **31 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo la Calibración para la obtención de buenos resultados.

### CARACTERISTICAS DEL METODO

- Rango de medida:** hasta 75 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.
- Límite de detección:** valores por debajo de 1 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
- Sensibilidad:**  $\Delta$  23.6 mA/mg/dL (5 mg/dL),  $\Delta$  12.9 mA / mg/dL (37 mg/dL).
- Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 500 mg/dL.
- Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	8,57 mg/dL	22,46 mg/dL	42,98 mg/dL
Total	3,9%	2,4%	1,9%
Within Run	1,6%	1%	1%
Between Run	2,2%	1,6%	1,1%
Between Day	2,8%	1,4%	1,2%

- Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método inmunoturbidimétrico de Bayer. 46 muestras de concentraciones de C4 entre 9 y 60 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,97 y la ecuación de la recta de regresión  $y = 1,16x - 1,86$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### BIBLIOGRAFIA

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

### PRESENTACION

Ref.: MD1102104

Cont.

R1 Diluyente: 2 x 40 mL

R2 Anticuerpo: 1 x 20 mL

## Détermination quantitative du complément C4 (C4) IVD

Conserver à 2 - 8°C.

### USAGE RECOMMANDÉ

Essai turbidimétrique pour la quantification du complément C4 en sérum ou plasma humain.

### PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les anticorps anti-C4 forment des composés insolubles quand ils sont associés avec le C4 de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorbance proportionnel à la concentration de C4 dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibre de C4 de concentration connue.

### SIGNIFICATION CLINIQUE<sup>1</sup>

Le complément C4 est le second composant réactif de la voie classique d'activation du complément. C'est une protéine synthétisée par le foie, même si elle peut aussi être synthétisée par les monocytes ou autres tissus.

La concentration de C4 dans le plasma augmente suite à une réponse de phase aiguë (traumatisme, inflammation ou nécrose tissulaire).

Une déficience génétique complète induit une diminution de la concentration de C4 dans le plasma, associée à une prévalence élevée de maladie auto-immunes ou collagène-vasculaires, en particulier, le Lupus Érythémateux Systémique (LES). Sa concentration peut également diminuer comme conséquence de la consommation dans la formation de complexes immunes.

### RÉACTIFS

<b>Diluant (R1)</b>	Tampon tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservateur.
<b>Anticorps (R2)</b>	Sérum de chèvre, anti-C4 humain, pH 7,5. Conservateur.
<b>En option :</b>	Cod : 1102003 PROT CAL

### ÉTALONNAGE

L'essai est étalonné par rapport au matériel de référence ERM-DA470k/IFCC. Pour l'étalonnage il faut utiliser le PROT CAL.

### PRÉPARATION

Réactifs : Prêts à l'usage.

### CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

**Indicateurs de détérioration :** Présence de particules et de turbidité.

Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

### MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Auto-analyseur SPIN640 / SPIN640Plus.
- Equipement classique de laboratoire.

### ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais, recueilli avec héparine ou EDTA comme anticoagulants. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

### VALEURS DE RÉFÉRENCE<sup>4</sup>

Nouveaux nés : Entre 13 – 38 mg/dL.

Adultes : Entre 10 – 40 mg/dL.

Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé d'utiliser des sérums de contrôle, afin de contrôler les essais aussi bien lors de procédures manuelles qu'automatiques. Spinreact dispose du PROT CONTROL cod : 1102004.

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées.

### REMARQUES

Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, mais doit également tenir compte des données cliniques du patient.

**POUR TRAVAILLER AVEC CODES A BARRES, IL FAUT CHARGER LA BASE DE DONNÉES QUE VOUS DEVEZ SOLLICITER PRÉALABLEMENT A SPINREACT.**

### APPLICATION AU SPIN640

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
N <sup>o</sup>	**	Vol. R1	240	
Test	C4	Vol. R2	60	
Full Name	COMPLEMENT C4	Vol. R3		
Standard n <sup>o</sup>	6	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	6	Decimal	1 Slope 1	
Vol. Sample Increas.		Unit	mg/dL Inter. 0	
Vol. Sample Dec				
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	20-21	
Sec. Wave.		React. Time	56-57	
CALIBRATION DILUTION (5 CAL + 1 WATER BLANK)				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
N <sup>o</sup> CAL DIL	CONCENTRATION	SAMPLE DIL	VOL DIL	VOL SAMPLE
0	CAL *0.1	10.0	90.0	6.0
1	CAL *0.25	30.0	90.0	6.0
2	CAL *0.4904	30.0	90.0	12.0
3	CAL *0.7217	30.0	90.0	18.0
4	CAL	0.0	0.0	6.0

### APPLICATION AU SPIN640Plus

EDIT PARAMETERS			
Test	C4	No.	**
Full name	C4	Print name	C4
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	340	Sec. Wave.	
Unit	mg/dL	Decimal	0
Reagent Blank	20-21	React. Time	63 - 64
Vol. Sample	6 ul	R1	240 ul
Increased		R2	60 ul
Decreased		R3	
Sample blank		R4	
CALIBRATION Spline Water 0			
Calibrator	*0.1	Vol aspirated	Vol net Vol dil
Calibrator	*0.25	6	13 115
Calibrator	*0.489	6	35 105
Calibrator	*0.735	12	35 105
Calibrator	(* )Cal Value	18	35 105
		6	-- --

L'étalonnage est stable jusqu'à 31 jours. Passé ce délai, doit étalonner de nouveau pour obtenir de bons résultats.

### CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

- Limite de linéarité:** jusqu'à 75 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec NaCl 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.
- Limites de détection:** les valeurs en dessous de 1 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.
- Sensibilité:**  $\Delta$  23,6 mA/mg/dL (5 mg/dL),  $\Delta$  12,9 mA / mg/dL (37 mg/dL).
- Effet prozone:** Aucun effet prozone n'a été observé jusqu'à des valeurs de 500 mg/dL.
- Précision:** Le réactif a été testé pendant 20 jours avec trois niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
		8,57 mg/dL	22,46 mg/dL
Total	3,9%	2,4%	1,9%
Pendant l'exécution	1,6%	1%	1%
Entre l'exécution	2,2%	1,6%	1,1%
Entre jours	2,8%	1,4%	1,2%

- Exactitude:** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec une méthode immunoturbidimétrique de Bayer. 46 échantillons de concentrations de C4 entre 9 et 60 mg/dL ont été analysés avec les deux méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,97 et l'équation de la droite de régression  $y = 1,16x - 1,86$ .

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

### BIBLIOGRAPHIE

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

### PRÉSENTATION

Réf : MD1102104	Cont.	R1. Diluant : 2 x 40 mL R2. Anticorps : 1 x 20 mL
-----------------	-------	--

## Determinação quantitativa do complemento C4 (C4) IVD

Conservar a 2 – 8 °C.

### PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos anti-C4 formam compostos insolúveis quando se combinam com o C4 da amostra do doente, causando uma alteração na absorvância proporcional à concentração de C4 na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de C4 de concentração conhecida.

### SIGNIFICADO CLÍNICO<sup>1</sup>

O complemento C4 é o segundo componente reagente da via clássica de ativação do complemento. É uma proteína sintetizada pelo fígado, embora também possa ser sintetizada pelos monócitos ou outros tecidos.

A concentração de C4 no plasma, aumenta como resultado de uma resposta de fase aguda (trauma, inflamação ou necrose tissular).

Uma deficiência genética completa induz uma diminuição da concentração de C4 no plasma, associada a uma elevada prevalência de doenças auto-inunes ou colagénio-vasculares, particularmente, o Lúpus Eritematoso Sistémico (LES). A sua concentração também pode diminuir como consequência do consumo na formação de complexos imunes.

### REAGENTES

<b>Solvente (R1)</b>	Tampão tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservante.
<b>Anticorpo (R2)</b>	Soro de cabra, anti-C4 humana, pH 7,5. Conservante.
<b>Opcional:</b>	Cód.: 1102003 PROT CAL.

### CALIBRAÇÃO

O ensaio está padronizado comparativamente ao Material de Referência ERM-DA470k/IFCC. O PROT CAL deve ser utilizado para a calibração.

### PREPARAÇÃO

**Reagentes:** Prontos a utilizar.

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade quando os frascos são mantidos bem fechados a 2-8 °C e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que tenham excedido o prazo de validade.

**Indicadores de degradação:** Presença de partículas e turvação.

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Solvente pode afetar a sua funcionalidade.

### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalisador SPIN640 / SPIN640Plus.
- Equipamento habitual de laboratório.

### AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes. Estável durante 7 dias a 2-8 °C ou durante 3 meses a -20 °C.

As amostras com resíduos de fibrina devem ser centrifugadas.

Não utilizar amostras altamente hemolizadas ou lipémicas.

### VALORES DE REFERÊNCIA<sup>4</sup>

Recém-nascidos: Entre 13 - 38 mg/dL.

Adultos: Entre 10 – 40 mg/dL.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência

### CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se utilizar soros controlo para controlar os ensaios tanto em procedimento manual como em automático. A Spinreact dispõe do PROT CONTROL cód.: 1102004.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e as ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias exigidas.

### NOTAS

O diagnóstico clínico não deve realizar-se unicamente através dos resultados de um único ensaio, devendo considerar-se em simultâneo os dados clínicos do doente.

**PARA CARREGAR REAGENTES POR CÓDIGO DE BARRAS DEVE PRÉ-CARREGAR O "BANCO DE DADOS" DISPONÍVEL MEDIANTE ORDEM A SPINREACT.**

## APLICAÇÃO AO SPIN640

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
Nº	**	Vol. R1	240	
Test	C4	Vol. R2	60	
Full Name	COMPLEMENT C4	Vol. R3		
Standard nº	6	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	6	Decimal	1 Slope 1	
Vol. Sample Increas.		Unit	mg/dL Inter. 0	
Vol. Sample Dec				
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	20-21	
Sec. Wave.		React. Time	56-57	
CALIBRATION DILUTION (5 CAL + 1 WATER BLANK)				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
Nº CAL DIL	CONCENTRAÇÃO	AMOSTRA DIL	DIL VOL	VOL AMOSTRA
0	CAL *0.1	10.0	90.0	6.0
1	CAL *0.25	30.0	90.0	6.0
2	CAL *0.4904	30.0	90.0	12.0
3	CAL *0.7217	30.0	90.0	18.0
4	CAL	0.0	0.0	6.0

## APLICAÇÃO AO SPIN640Plus

EDIT PARAMETERS			
Test	C4	No.	**
Full name	C4	Print name	C4
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	340	Sec. Wave.	
Unit	mg/dL	Decimal	0
Reagent Blank	20-21	React. Time	63 - 64
Vol. Sample	6 ul	R1	240 ul
Increased		R2	60 ul
Decreased		R3	
Sample blank		R4	
CALIBRATION			
Spline	Water	0	
Calibrator	*0.1	6	13 115
Calibrator	*0.25	6	35 105
Calibrator	*0.489	12	35 105
Calibrator	*0.735	18	35 105
Calibrator	(*Cal Value	6	-- --

A Calibração juntamente com o branco de reagente é estável até 31 dias. Passado este período, é necessário solicitar novamente o branco do reagente para validar a calibração.

### CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

1. Intervalo de medida: até 75 mg/dL, nas condições descritas do ensaio. As amostras com valores superiores devem diluir-se 1/5 com NaCl 9 g/L e novamente testadas. O intervalo de medida depende da relação amostra/reagente. Diminuindo o volume de amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medida, embora se reduza a sensibilidade.

2. Limite de deteção: valores abaixo 1 mg/dL darão lugar a resultados pouco reprodutíveis.

3. Sensibilidade: Δ 23.6 mA/mg/dL (5 mg/dL), Δ 12.9 mA / mg/dL (37 mg/dL),

4. Efeito prozona: Não se observa efeito prozona até valores de 500 mg/dL.

5. Precisão: O reagente foi testado durante 20 dias com três níveis diferentes de soro num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	8,57 mg/dL	22,46 mg/dL	42,98 mg/dL
Total	3,9%	2,4%	1,9%
Within Run	1,6%	1%	1%
Between Run	2,2%	1,6%	1,1%
Between Day	2,8%	1,4%	1,2%

6. Exactidão: O comportamento deste método (y) foi comparado com um método imunoturbidimétrico de Bayer. 46 amostras de concentrações de C4 entre 9 e 60 mg/dL foram analisadas com ambos métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,97 e a equação da recta de regressão  $y = 1,16x - 1,9$ .

As características do método podem variar conforme o analisador utilizado.

### BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 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, 3th ed. AACC Pres, 1997.

### APRESENTAÇÃO

Ref.: MD1102104	Cont.	R1.Solvente: 2 x 40 mL
		R2.Anticorpo: 1 x 20 mL