

Complement C4 FS*

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von Complementfaktor C4 in Serum oder Plasma an photometrischen Systemen

Bestellinformation

Bestell-Nr.	Packungsgröße
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 Protein high
5 9200 99 10 039	5 x 1 mL TruCal Protein: Kalibratorset mit 5 Konzentrationen

Zusammenfassung [1,2]

Das Komplementsystem besteht aus mindestens 20 Plasmaproteinen und einigen Rezeptorproteinen, die in einer regulierten proteolytischen Kaskade interagieren, um eingedrungene Bakterien zu zerstören und den Ablagerung von Immunkomplexen zu verhindern. Die Aktivierung des Komplementsystems führt zu erniedrigten C3- und/oder C4-Konzentrationen aufgrund des Verbrauchs der intakten Proteine. Die Komplementkaskade kann über zwei Reaktionswege aktiviert werden: Der klassische Reaktionsweg wird durch Immunkomplexe oder durch an Bakterien oder Viren gebundene Antikörper angestoßen. Die Kaskade beginnt mit der Bindung der C1q-Komponente von C1 an die Fc-Region des Antikörpers und aktiviert C3 durch Proteolyse von C4. Der alternative Reaktionsweg wird unabhängig von Antikörpern durch Mikroorganismen, Polysaccharide oder durch Autolyse von C3 oder aggregierten Immunkomplexen angestoßen. Der alternative Reaktionsweg benötigt kein C4-Protein. Da C3 in beiden Reaktionswegen vorkommt, zeigen erniedrigte C3-Konzentrationen eine allgemeine Komplement-Aktivierung an. Erniedrigte C3-Werte werden bei Entzündungs- und Infektionskrankheiten beobachtet, besonders bei Glomerulonephritis und bei SLE (systemischer Lupus erythematodes). Je nachdem, welcher Reaktionsweg aktiviert wurde, kann die C4-Konzentration erniedrigt oder normal sein. Erniedrigte C4-Konzentrationen ohne gleichzeitig erniedrigte C3-Konzentrationen treten beim hereditären oder erworbenen angioneurotischen Ödem auf. Es wurden hereditäre Mangelzustände beider Komplementfaktoren beschrieben. C3 und C4 reagieren auch als Akute-Phase-Proteine. Ein Anstieg aufgrund eines entzündlichen Prozesses kann einen leicht erhöhten Komplementverbrauch maskieren.

Methode

Immunturbidimetrischer Test

Prinzip

Bestimmung der C4-Konzentration durch photometrische Messung der Antigen-Antikörper-Reaktion zwischen Antikörpern gegen C4 und in der Probe vorliegendem C4.

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1:	TRIS	pH 7,5	100 mmol/L
	NaCl		320 mmol/L
R2:	TRIS	pH 8,0	100 mmol/L
	NaCl		300 mmol/L
	Antikörper (Ziege) gegen humanes C4		< 1 %

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Die Reagenzien sind bei 2–8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn nach dem Öffnen der Flaschen Kontaminationen vermieden werden. Reagenzien nicht einfrieren! Reagenzien vor Lichteinstrahlung schützen.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Reagenz 1: Achtung. H319 Verursacht schwere Augenreizung. P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P305+P351+P338 Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. P337+P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
2. Die Reagenzien enthalten Natriumazid (0,95 g/L) als Konservierungsmittel. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
3. Reagenz 2 enthält tierisches Material. Behandeln Sie das Produkt als potentiell infektiös gemäß allgemein anerkannter Vorsichtsmaßnahmen und guter Laborpraxis.
4. In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [6].
5. Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
6. Nur für professionelle Anwendung!

Entsorgung

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Zusätzlich benötigte Materialien

NaCl-Lösung 9 g/L.
Übliche Laborausrüstung.

Probenmaterial [3]

Serum, Heparin-Plasma oder EDTA-Plasma.

Während der Lagerung werden die C3- und C4-Proteine langsam zu C3c bzw. C4 Fragmenten abgebaut (dieser Abbau wird durch EDTA verhindert). Die Fragmente enthalten noch die reaktiven Epitope und können sogar höhere Signale als intakte Proteine zeigen. Abhängig von den Bedingungen dieses Alterungsprozesses können frische Serumproben 30 % niedrigere C3-Werte zeigen als Proben, die 8 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt wurden. Die Fragmentierung von C4 ist langsamer als für C3; unter ähnlichen Bedingungen können nur 15 % niedrigere Werte beobachtet werden.

Kontaminierte Proben verwerfen!

Testschema für Analysenautomaten

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Wellenlänge	340 nm
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	37 °C
Messung	Gegen Reagenzienleerwert (RLW)

	Reagenzien-leerwert	Probe oder Kalibrator
Probe oder Kalibrator	-	10 µL
Aqua dest.	10 µL	-
Reagenz 1	350 µL	350 µL
Mischen, 3–5 Min. inkubieren, Extinktion E1 ablesen, dann zufügen:		
Reagenz 2	70 µL	70 µL
Mischen, 5 Min. inkubieren, Extinktion E2 ablesen.		

$$\Delta E = (E2 - E1) \text{ Probe oder Kalibrator}$$

Berechnung

Die C4-Konzentration unbekannter Proben wird über eine Kalibrationskurve unter Verwendung eines geeigneten mathematischen Modells wie logit/Log oder spline berechnet. Die Kalibrationskurve wird mit fünf Kalibratoren verschiedener Konzentration und NaCl-Lösung (9 g/L) für die Bestimmung des Nullpunkts erstellt.

Stabilität der Kalibration: 4 Wochen

Kalibratoren und Kontrollen

Für die Kalibrierung von automatisierten photometrischen Systemen wird das DiaSys TruCal Protein Kalibratorset oder der Kalibrator TruCal Protein high empfohlen. Die Kalibratorwerte sind rückverfolgbar auf das Referenzmaterial ERM[®]-DA470k/IFCC. Für die interne Qualitätskontrolle sollte eine DiaSys TruLab Protein Kontrolle gemessen werden. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruLab Protein Level 1	5 9500 99 10 046	3 x 1 mL
TruLab Protein Level 2	5 9510 99 10 046	3 x 1 mL

Leistungsmerkmale

Messbereich

Der Test hat einen Messbereich von 0,6–90 mg/dL (0,006–0,9 g/L) (abhängig vom höchsten Kalibrator). Wird dieser Bereich überschritten, müssen die Proben 1 + 1 mit NaCl-Lösung (9 g/L) verdünnt und das Ergebnis mit 2 multipliziert werden.

Prozonensicherheit

Bis zu einer C4-Konzentration von 180 mg/dL (1,8 g/L) wurde kein Prozoneneffekt beobachtet.

Spezifität/Interferenzen

DiaSys Complement C4 ist aufgrund seiner Antikörper ein spezifischer Immunoassay für humanes C4. Es treten keine Interferenzen mit konjugiertem und unkonjugiertem Bilirubin bis 60 mg/dL, Hämoglobin bis 1000 mg/dL, Lipämie bis 2000 mg/dL Triglyceride und RF bis 1200 IU/mL auf.

Es konnten keine Interferenzen durch monoklonale Gammopathien bis 6400 mg/dL IgA, 4100 mg/dL IgM und 6400 mg/dL IgG beobachtet werden. Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS [5]

Testempfindlichkeit/Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze ist 0,6 mg/dL (0,006 g/L).

Impräzision

In der Serie n = 20	Mittelwert [mg/dL]	Standard- abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	27,2	0,895	3,29
Probe 2	42,4	1,64	3,87
Probe 3	55,2	1,34	2,43

Von Tag zu Tag n = 20	Mittelwert [mg/dL]	Standard- abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	28,6	0,959	3,35
Probe 2	39,7	0,965	2,43
Probe 3	52,3	1,62	3,10

Gesamtpräzision nach dem NCCLS-Protokoll EP-5 (National Committee of Clinical Laboratory Standards):

Gesamtpräzision n = 80	Mittelwert [mg/dL]	Standard- abweichung [mg/dL]	VK [%]
Sample 1	28,9	0,983	3,40
Sample 2	40,2	1,073	2,67

Methodenvergleich

Bei einem Vergleich von DiaSys Complement C4 FS (y) mit einem immunturbidimetrischen Test (x) wurden mit 107 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 0,97 x - 0,053 \text{ mg/dL}; r = 0,984$$

Bei einem Vergleich mit einem nephelometrischen Test (x) wurden mit 92 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,12 x - 0,21 \text{ mg/dL}; r = 0,975$$

Referenzbereich [4]

10–40 mg/dL (0,1–0,4 g/L)

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 794-806.
2. Johnson AM, Rohlf's EM, Silverman LM. Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER. editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1999. p. 502-7.
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.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Hersteller



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland