



Finalidade

Método imunoturbidimétrico para a determinação do componente C3 do complemento

Significado clínico

O C3 é uma β -2-proteína que constitui o componente central da via clássica e da alternativa do complemento.

Além disso, comporta-se como uma proteína de fase aguda, portanto, os níveis séricos aumentados estão relacionados com doenças inflamatórias agudas. Níveis séricos baixos se observam em doenças autoimunes, glomerulonefrite, deficiências congênitas, etc.

Fundamentos do método

A proteína C3 do complemento reage com o anticorpo específico anti-C3 formando imunocomplexos insolúveis.

A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de C3 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-C3.

Reagentes não fornecidos

- Solução fisiológica
- **Protein Calibrator** de Laborlab.

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) Estabilidade e instruções de armazenamento: recomenda-se utilizar soros preferivelmente 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.

Interferências

Não utilizar soros hemolisados ou contaminados.

Não se observam interferências por bilirrubina até 20 mg/dl, triglicerídeos até 25 g/l nem hemoglobina até 10 g/dl.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

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 Protein Calibrator: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 e 1:160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

Protein Calibrator diluído	70 ul
Reagente A	900 u

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. Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada diluição do Protein Calibrator, 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 Protein Calibrator.

PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS

Realizar diluições 1:10 da Amostra em solução fisiológica.

Amostra diluída	70 ul
Reagente A	900 u

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.

Cálculos dos resultados

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolando 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 Protein Calibrator devem ser diluídas 1:2 com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos por dois.

Exemplo:

Curva de calibração

	Valor teórico	DO_1	DO_2	$\Delta A (DO_2 - DO_1)$
Calibrador 0	0,00	0,092	0,090	0,002
Calibrador 1	26,75	0,098	0,238	0,140
Calibrador 2	53,50	0,107	0,315	0,208
Calibrador 3	107,00	0,101	0,410	0,309
Calibrador 4	214,00	0,102	0,532	0,430
Calibrador 5	428,00	0,101	0,643	0,542

Método de controle de qualidade

Immunology Control Level 1 da Laborlab.

O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

Valores de referência

90 - 180 mg/dl (0,9 - 1,8 g/l).

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

$C3 (mg/dl) \times 10 = C3 (mg/l)$

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

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 absorvâncias maiores ao calibrador mais alto da curva de calibração, deverão ser diluídas e ensaiadas novamente. A concentração de C3 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:

Nível	D.P.	C.V.
115,9 mg/dl	± 1,12 mg/dl	1,0 %
142,1 mg/dl	± 2,86 mg/dl	2,0 %

b) Faixa dinâmica: podem-se obter valores entre a concentração do calibrador mais baixa e mais alta da curva de calibração (por volta de 400 mg/dl).

c) Limite de detecção: a mínima concentração quantificável de C3 é 20 mg/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

Para a calibração, deve-se utilizar **Protein Calibrator** da Laborlab.

Apresentação

1 x 30 ml Reagente A
1 x 2,5 ml Reagente B
(Cód. 1770480)

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", AACCPress, 4th ed., 2001.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após a reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br