

Complément C4 FS*

CODE CQN : HT

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative du complément C4 dans le sérum ou le plasma sur systèmes photométriques

Présentation

Références	Emballage	coffret
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 :

Calibrant à 5 niveaux de concentration

Intérêt clinique [1,2]

Le système du complément représente un groupe d'au moins 20 protéines plasmatiques circulantes et plusieurs récepteurs de protéines qui interagissent en cascade protéolytique régulé, dans le but de détruire les bactéries invasives et de prévenir le dépôt de complexes immuns. L'activation du complément se traduit en une baisse des concentrations de C3 et/ou de C4 due à la disparition de protéines intactes. La cascade du complément peut être activée selon deux voies différentes. La voie classique est activée par les complexes immuns ou les anticorps liés aux bactéries et aux virus. La cascade démarre par la liaison de la sous unité C1q de C1 au fragment Fc de l'anticorps, suivie de l'activation de C3 par protéolyse de C4. Indépendamment des anticorps, l'autre voie d'activation se fait par les microorganismes, les polysaccharides, ainsi que l'autolyse du C3 ou d'immunoglobulines agrégées. Cette voie alterne ne requiert pas la protéine C4. La protéine C3 étant commune aux deux voies, des concentrations diminuées de C3 sont le signe d'une activation générale du complément. On trouve des valeurs abaissées en C3 dans les pathologies inflammatoires et infectieuses, en particulier dans la glomérulonéphrite et le lupus érythémateux disséminé (SLE). Selon la voie d'activation, les valeurs de C4 peuvent être diminuées ou rester stables. L'abaissement du taux de C4 peut s'observer en cas d'œdème angioneurotique héréditaire ou acquis. On connaît des cas de déficits génétiques des deux facteurs du complément.

Le composé C3, tout comme le composé C4, réagissent comme des protéines de phase active. Leur élévation au cours des processus inflammatoires peut masquer une consommation du complément légèrement accélérée.

Méthode

Test immunoturbidimétrique

Principe

Détermination de la concentration du Complément C4 par mesure photométrique d'une réaction antigène anticorps entre les anticorps C4 humain et le Complément C4 présent dans l'échantillon.

Réactifs

Composants et Concentrations

R1 : TRIS	pH 7,5	100 mmol/L
NaCl		320 mmol/L
R2 : TRIS	pH 8,0	100 mmol/L
NaCl		300 mmol/L
Anticorps Anti-C4 humain (chèvre)		< 1 %

Préparation et Conservation des réactifs

Les réactifs sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler les réactifs et les conserver à l'abri de la lumière !

Avertissements et précautions d'emploi

- Réactif 1: Attention. H319 Provoque une sévère irritation des yeux. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P305+P351+P338 En cas de contact avec les yeux: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P337+P313 Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (0,95 g/L) comme conservateur. Ne pas avaler ! Eviter le contact avec la peau et les muqueuses !
- Le réactif 2 contient de la matière animale. Manier le produit comme potentiellement infectieux selon les précautions universelles et de bonne pratique de laboratoire.
- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs faussées [6].
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel !

Élimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Matériels requis mais non fournis

Solution NaCl 9 g/L
Équipement général de laboratoire

Spécimen [3]

Sérum, plasma recueilli sur héparine ou EDTA

Lors de la conservation du sérum, les protéines C3 et C4 se scindent lentement en fragments C3c respectivement C4 (la fragmentation est inhibée par l'EDTA). Ces fragments renferment cependant les épitopes actifs et peuvent présenter des signaux plus élevés que la protéine intacte. En fonction des conditions de vieillissement, les échantillons de sérum frais peuvent afficher des valeurs de C3 jusqu'à 30% plus faibles que celles d'échantillons conservés entre +2 °C et +8 °C pendant 8 jours. La fragmentation du C4 étant beaucoup plus lente que celle du C3, les valeurs d'échantillons frais sont 15 % plus faibles dans les mêmes conditions de conservation.

Éliminer les échantillons contaminés !

Mode opératoire pour analyseurs

Des notices d'application adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	340 nm
Trajet optique	1 cm
Température de mesure	+37 °C
Mesure Contre le blanc réactif	

	Blanc	Échantillon/ Calibrant
Échantillon/Calibrant	-	10 µL
Eau distillée	10 µL	-
Réactif 1	350 µL	350 µL
Mélanger, incubé pendant 3 à 5 min. et lire l'absorbance (A1), puis ajouter :		
Réactif 2	70 µL	70 µL
Mélanger, incubé pendant 5 min. et lire l'absorbance (A2).		

$$\Delta A = (A2 - A1) \text{ Échantillon/Calibrant}$$

Calcul

La concentration en C4 des échantillons à doser se calcule à partir d'une courbe de calibration utilisant un modèle mathématique approprié de type logit/Log ou spline. La courbe de calibration est obtenue à partir de cinq calibrants à différents niveaux de concentrations et de NaCl à 9 g/L pour la détermination de la valeur zéro.

Stabilité de la calibration : 4 semaines

Calibrants et Contrôles

Pour la calibration des systèmes photométriques automatisés, les calibrants TruCal Protein ou TruCal Protein High de DiaSys sont recommandés, leurs composants couvrant de façon optimale le domaine de mesure des tests. Les valeurs de ces calibrants sont établies par rapport au matériel de référence ERM[®]-DA470k/IFCC. Pour le contrôle de qualité interne, les contrôles Diasys TruLab Protein devrait être utilisés. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Taille coffret
TruLab Protein Niveau 1	5 9500 99 10 046	3 x 1 mL
TruLab Protein Niveau 2	5 9510 99 10 046	3 x 1 mL

Performances

Domaine de mesure

Le test a été développé pour la détermination de concentrations en C4 allant de 6 à 900 mg/L (0,006 à 0,9 g/L) - dépendant de la valeur du calibrant le plus haut. Au delà de ces valeurs, diluer l'échantillon 1 + 1 avec de la solution de chlorure de sodium (9 g/L) et multiplier le résultat par 2.

Limite de prozone

Aucun effet de prozone n'a été observé en deçà de valeurs de C4 de 1800 mg/L (1,8 g/L).

Spécificité/Interférences

De par ses anticorps, les coffrets Complément C4 FS de DiaSys sont spécifiques de la C4 humaine.

Aucune perturbation n'a été observée en présence de bilirubine conjuguée ou non jusqu'à 600 mg/L, d'hémoglobine jusqu'à 10 g/L, de lipémie jusqu'à 20 g/L de triglycérides et de facteurs rhumatoïdes jusqu'à 1200 UI/mL. Aucune interférence n'a été observée par les gammopathies monoclonales jusqu'à 64 g/L IgA, 41 g/L IgM et 64 g/L IgG. Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [5].

Sensibilité/Limite de détection

La limite de détection analytique est de 6 mg/L (0,006 g/L).

Imprécision

Intra série n = 20	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Échantillon 1	272	8,95	3,29
Échantillon 2	424	16,4	3,87
Échantillon 3	552	13,4	2,43

Inter série n = 20	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Échantillon 1	286	9,59	3,35
Échantillon 2	397	9,65	2,43
Échantillon 3	523	16,2	3,10

En accord avec le protocole EP-5 du NCCLS (National Committee of Clinical Laboratory Standards), la précision total est :

Précision Total n = 80	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Échantillon 1	289	9,83	3,40
Échantillon 2	402	10,73	2,67

Comparaison de méthodes

Une comparaison du Complément C4 FS de DiaSys (y) avec une méthode immunoturbidimétrique disponible sur le marché (x), réalisée sur 107 échantillons, a donné les résultats suivants :

$$y = 0,97 x + 0,53 \text{ mg/L}$$

Coefficient de corrélation : $r = 0,984$

Une comparaison du Complément C4 FS de DiaSys (y) avec une méthode néphélométrique disponible sur le marché (x), réalisée sur 92 échantillons, a donné les résultats suivants :

$$y = 1,12 x - 2,1 \text{ mg/L}$$

Coefficient de corrélation : $r = 0,975$

Valeurs usuelles [4]

100 – 400 mg/L (0,1 – 0,4 g/L)

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références bibliographiques

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, Bienvu 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 200.
6. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Fabricant



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim (Allemagne)