

**C<sub>3</sub> RID****Determinazione della proteina C<sub>3</sub>, mediante piastra a immunodiffusione radiale.****PRINCIPIO DEL TEST**

Il C<sub>3</sub>, diffondendo nel gel di agarosio, nel quale è stato sciolto l'anticorpo specifico, causa la formazione di un immunocomplesso, visibile come anello attorno al pozzetto di semina. Il diametro di questo anello è proporzionale alla concentrazione di C<sub>3</sub> presente nel campione.

Questa proporzionalità è in funzione del tempo di migrazione, infatti, a migrazione terminata (72 h), il quadrato del diametro è lineare proporzionale alla concentrazione (procedura 1), mentre per tempi inferiori il quadrato del diametro è logaritmicamente proporzionale alla concentrazione (procedura 2). In questi due casi è necessario costruire una curva di calibrazione utilizzando almeno tre punti di calibrazione. Viene comunque fornita una tabella di correlazione in cui ad ogni diametro diffusivo terminato è associata una concentrazione (procedura 3).

**CAMPIONI**

Siero, plasma. Stabilità 6 giorni a 4 °C.

**REAGENTI**

Piastra: Gel di agarosio contenente l'antisiero C<sub>3</sub> da capra.

**PREPARAZIONE DEI REAGENTI**

Le piastre sono pronte all'uso.

Stabilità: fino alla scadenza indicata in etichetta se conservate orizzontalmente a 2-8°C.

Stabilità dopo apertura: due settimane se, dopo il primo impiego, viene conservata ben chiusa a 2-8°C.

La piastra può essere utilizzata per altre due settimane controllando l'accuratezza mediante un siero di controllo.

**MATERIALI NECESSARI NON FORNITI**

Micropipette da 5 µl, regolo per la lettura dell'anello, normale strumentazione di laboratorio.

**PRECAUZIONI**

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è comunque opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste per il comportamento in laboratorio.

**PROCEDIMENTO**

Riportare la piastra a temperatura ambiente, aprirla ed attendere che l'eventuale condensa presente nei pozzetti di semina evaporati. Pipettare 5 µl di campione e/o controlli e attendere il completo riassorbimento di questi prima di maneggiare la piastra. Chiuderla accuratamente e porla in camera umida per il tempo necessario allo svolgimento dell'analisi (72 h per metodo End Point, 18 h per il metodo cinetico). Per velocizzare il tempo di analisi è possibile porre le piastre in termostato.

**INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Misurare gli anelli di precipitazione con un sistema che assicuri un errore massimo di 0,1 mm al tempo stabilito in funzione della procedura che si intende seguire, 72 h per le procedure 1 e 3, 18 h per la procedura 2.

**PROCEDURA 1**

Riportare su carta millimetrata il quadrato degli anelli di precipitazione e le concentrazioni dei controlli utilizzati. Si dovrebbe ottenere una retta con una intercetta compresa tra 10 e 11 mm. I valori dei campioni si ottengono per interpolazione.

**PROCEDURA 2**

Riportare su carta millimetrata il quadrato degli anelli di precipitazione e il logaritmo delle concentrazioni dei controlli utilizzati. Si dovrebbe ottenere una curva interpolante che è approssimabile ad una retta solo per i valori bassi mentre per i valori alti potrebbe piegare leggermente. E' possibile evitare il logaritmo delle concentrazioni e si ottiene una curva. I valori dei campioni si ottengono per interpolazione.

**PROCEDURA 3**

Leggere sulla tabella allegata il valore della concentrazione in funzione del diametro dell'anello di precipitazione. Il siero di controllo, da utilizzarsi sempre per questo tipo di procedura, dovrebbe dare un anello che si differenzia al massimo di 0,2 mm dal valore riportato in tabella.

**NOTA**

Il tempo di diffusione, e quindi il tempo di lettura, dipende dalla concentrazione della proteina. Dopo 72 ore la diffusione ad ogni concentrazione è sicuramente terminata. Per concentrazioni non elevate è possibile leggere a tempi notevolmente inferiori (es. 36 ore), è comunque consigliato in questi casi effettuare una successiva lettura dopo 3/5 ore ed osservare se il diametro non è variato. In questo caso è possibile stabilire la concentrazione mentre se il diametro è variato occorre ripetere la lettura dopo altre 3/5 ore

**CALIBRAZIONE**

E' consigliabile l'esecuzione di un controllo di qualità interno.

**PRESTAZIONI DEL TEST**

Precisione			
	nella serie (n= 10) media	SD (mg/dl)	CV
% campione 1	102.36	1.81	1.77
campione 2	183.40	2.54	1.39
tra le serie (n= 20) media			
	SD (mg/dl)	CV	
% campione 1	101.51	1.95	1.92
campione 2	184.21	1.98	1.07

**Confronto tra metodi**

Un confronto commerciale disponibile ha fornito i seguenti risultati in una comparazione su 70 campioni:

$$C_3 \text{ Meridian Healthcare} = x$$

$$C_3 \text{ concorrenza} = y$$

$$n = 70$$

$$y = 1,008x - 0,366$$

$$r = 0,9997$$

**Range di misura**

26 – 300 mg/dl

**CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO**

Il prodotto è destinato all'utilizzo all'interno di laboratori di analisi professionali. Per un corretto smaltimento dei rifiuti fare riferimento alla normativa vigente e alle schede informative in materia di sicurezza.

**INTERVALLI DI RIFERIMENTO**

C<sub>3</sub> 91 – 156 mg/dl

**CONFEZIONI**

C<sub>3</sub> 1 x 15 pozzetti

**BIBLIOGRAFIA**

Mancini e coll.-Immunochemistry. 2:235 (1965)  
Fahey e coll.- J. Immunol. 94 : 84 (1965)

**PRODUTTORE****Meridian Healthcare srl**

Tel. +39 095 725 68 69 Fax: +39 095 725 44 54  
info@meridianhealthcare.it  
www.meridianhealthcare.it

**LEGENDA SIMBOLI**

	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso
	Solo per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Conservare a 2-8°C
	N°determinazioni per kit
	Usare entro
	Numero del lotto
	Fabbricante
	Non riutilizzare
	Codice RK00400