

Quantitative determination of complement C3 (C3) IVD

Store 2 - 8°C.

INTENDED USE

The C3 is a quantitative turbidimetric test for the measurement of complement C3 in human serum or plasma.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-human C3 antibodies when mixed with samples containing C3, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the C3 concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known C3 concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE¹

C3 is the functional link between classical and alternative pathways of activation and it is the most concentrate component of the complement system in human plasma. Hepatic cells synthesize C3, although bacterial endotoxins induce synthesis by monocytes and fibroblasts.

Concentration C3 increases as a consequence of an acute-phase response (trauma, surgery or inflammatory process), biliary obstruction and focal glomerulosclerosis. Decreasing C3 levels are consequence of a genetic deficiency that may increase the risk of infections particularly with encapsulated bacteria, or acquired deficiency that causes vascular disorders and severe infections.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Sodium azide 0.95 g/L.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human C3, pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

The assay is calibrated to the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements). It must be used the PROT CAL to calibrate the reagent. The reagent (both monoreagent and bireagent) should be recalibrated every month, when the controls are out of specifications, and when changing the reagent lot or the instrument settings.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL dilutions in NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the C3 calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the C3 concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

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

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 340 nm filter (320 - 360 nm).

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.

PROCEDURE

- Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.
- Assay conditions:
 - Wavelength : 340
 - Temperature : 37 °C
 - Cuvette light path : 1cm
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

Reagent R1	800 µL
Sample or Calibrator	10 µL

- Mix and read the absorbance (A₁) after the sample addition.

- Immediately, pipette into de cuvette:

Reagent R2	200 µL
------------	--------

- Mix and read the absorbance (A₂) of calibrators and sample exactly 2 minutes after the R2 addition.

Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference (A₂-A₁) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the C3 concentration of each calibrator dilution. C3 concentration in the sample is calculated by interpolation of its (A₂-A₁) in the calibration curve.

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.

REFERENCE VALUES⁵

Neonates: Between 70 - 196 mg/dL.

Adults: Between 90 - 180 mg/dL.

Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Measurement range:** Up to 600 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 1500 mg/dL.
- Sensitivity:** Δ 8.86 mA. mg/dL (23.8 mg/dL), Δ 84.3 mA. mg/dL (190 mg/dL).
- Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study.

EP5	CV (%)		
	42.98 mg/dl	118.96 mg/dl	229.5 mg/dl
Total	6.6%	2.3%	3.1%
Within Run	0.9%	0.8%	0.8%
Between Run	3.7%	2.2%	1.8%
Between Day	5.4%	0%	2.4%

- Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using an immunoturbidimetric method from Bayer. 48 samples ranging from 50 to 200 mg/dL of C3 were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.96 and the regression equation y = 1.1x - 0.6.

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

INTERFERENCES

Hemoglobin (19 g/L), bilirubin (40 mg/dL) and rheumatoid factors (600 IU/mL), do not interfere. Lipemia (10 g/L), interferes. Other substances may interfere.⁶⁻⁷

NOTES

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

BIBLIOGRAPHY

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Carrol MC. Annual Review of Immunology 1998; 16: 545-568.
- Lambris JD. Cruse JM Lewis RE Jr (eds): Complement Today. Complement Profiles. Basel, Karger, 1993; Vol1: 16-45.
- 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 1966; 14: 401-406.
- 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.: 1102094

Cont.

R1. Diluent: 1 x 40 mL
R2. Antibody: 1 x 10 mL

Determinación cuantitativa del complemento C3 (C3) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación del complemento C3 en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los anticuerpos anti-C3 forman compuestos insolubles cuando se combinan con el C3 de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de C3 en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de C3 de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLÍNICO¹

El complemento C3, componente de mayor concentración de todo el sistema del complemento del plasma, activa a éste a través de la vía clásica y alternativa. Es una proteína sintetizada por el hígado, aunque las endotoxinas bacterianas pueden inducir su síntesis por los monocitos y fibroblastos.

La concentración de C3 aumenta como consecuencia de una respuesta de fase aguda (trauma, inflamación o necrosis tisular), obstrucción biliar y glomeruloesclerosis focal.

La concentración de C3 puede hallarse disminuida como consecuencia de una deficiencia genética, por lo que aumenta el riesgo de infección especialmente por bacterias encapsuladas, o una deficiencia adquirida que provoca problemas vasculares e infecciones severas.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-C3 humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACION

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia CRM 470/RPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Debe utilizarse el PROT CAL para la calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada mes, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACION

Reactivos: Listos Para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del PROT CAL en C1Na 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de C3, multiplicar la concentración de C3 del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
C1Na 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

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

- Baño de agua a 37°C.

- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

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.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1	800 µL
Muestra o Calibrador	10 µL

5. Mezclar y leer la absorbancia (A₁) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	200 µL
-------------	--------

7. Mezclar y leer la absorbancia (A₂) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias (A₂ - A₁) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de C3 de cada dilución del Calibrador. La concentración de C3 en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A₂ - A₁) en la curva de calibración.

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.

VALORES DE REFERENCIA⁵

Recién nacidos: Entre 70 - 196 mg/dL.

Adultos: Entre 90 - 180 mg/dL.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

- Rango de medida:** hasta 600 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con C1Na 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:** Δ 8,86 mA/mg/dL (23,8 mg/dL), Δ 84,3 mA / mg/dL (190 mg/dL).
- Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 1500 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 (%)		
	42.98 mg/dl	118.96 mg/dl	229.5 mg/dl
Total	6.6%	2.3%	3.1%
Within Run	0.9%	0.8%	0.8%
Between Run	3.7%	2.2%	1.8%
Between Day	5.4%	0%	2.4%

- Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método inmunoturbidimétrico de Bayer. 48 muestras de concentraciones de C3 entre 50 y 200 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,96 y la ecuación de la recta de regresión y = 1.1 x - 0.6.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (19 g/L) y factores reumatoides (600 UI/mL), no interfieren. Los lípidos (10 g/L), interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁶⁻⁷

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.

BIBLIOGRAFIA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Carroll MC. Annual Review of Immunology 1998; 16: 545-568.
- Lambris JD. Cruse JM Lewis RE Jr (eds): Complement Today. Complement Profiles. Basel, Karger, 1993; Vol1: 16-45.
- Basel 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 1966; 14: 401-406.
- 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.

PRESENTACION

Ref.: 1102094	Cont.	R1. Diluyente: 1 x 40 mL
		R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL

Détermination quantitative du complément C3 (C3) IVD

Conserver à 2 - 8°C.

USAGE RECOMMANDÉ

Essai turbidimétrique pour la quantification du complément C3 en sérum ou plasma humain.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les anticorps anti-C3 forment des composés insolubles quand ils sont associés avec le C3 de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorbance proportionnel à la concentration de C3 dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibre de C3 de concentration connue.

SIGNIFICATION CLINIQUE¹

Le complément C3, composant de plus grande concentration de tout le système du complément du plasma, active celui-ci à travers la voie classique et alternative. C'est une protéine synthétisée par le foie, même si les endotoxines bactériennes peuvent induire sa synthèse par les monocytes et fibroblastes.

La concentration en C3 augmente suite à une réponse de phase aiguë (traumatisme, inflammation ou nécrose tissulaire), obstruction biliaire et glomérulosclérose focale. La concentration en C3 peut être diminuée suite à une déficience génétique, par conséquent le risque d'infection augmente en particulier par des bactéries encapsulées, ou une déficience acquise qui provoque des problèmes vasculaires et des infections sévères.

RÉACTIFS

Diluant (R1)	Tampon tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azoture de sodium 0,95 g/L.
Anticorps (R2)	Sérum de chèvre, anti-C3 humain, pH 7,5. Azoture de sodium 0,95 g/L.
En option :	Cod : 1102003 PROT CAL

ÉTALONNAGE

L'essai est étalonné par rapport au matériel de référence CRM 470/RPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Pour l'étalonnage il faut utiliser le PROT CAL. Le réactif (aussi bien monoréactif que biréactif) doit être recalibré tous les mois, quand les contrôles sont en dehors des spécifications, et quand le lot de réactif ou la configuration de l'instrument change.

PRÉPARATION
Réactifs : Prêts à l'usage.

Courbe d'étalonnage : Préparer les dilutions suivantes du PROT CAL en ClNa 9 g/L comme diluant. Pour obtenir les concentrations de chaque dilution de C3, multiplier la concentration de C3 du calibre par le facteur correspondant indiqué dans le tableau :

Dilution calibre	1	2	3	4	5	6
Calibre (µL)	--	10	25	50	75	100
ClNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

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

- Bain -marie à 37°C.
- Spectrophotomètre ou photomètre avec cuvette thermostable à 37°C pour des lectures à 340 nm (320-360 nm).

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.

PROCÉDURE

1. Chauffer les réactifs et le photomètre (porte- cuvettes) à 37°C.

2. Conditions de l'essai :

Longueur d'onde : 340 nm

Température : 37°C

Passage de lumière de la cuvette : 1 cm

3. Ajuster le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.

4. Introduire la pipette dans une cuvette:

Réactif R1	800 µL
Échantillon ou calibre	10 µL

 5. Mélanger et lire l'absorbance (A₁) après l'ajout de l'échantillon.

6. Introduire la pipette dans la cuvette tout de suite après :

Réactif R2	200 µL
------------	--------

 7. Mélanger et lire l'absorbance (A₂) exactement 2 minutes après avoir ajouté le réactif R2.

Spinreact dispose d'adaptations détaillées pour la plupart des analyseurs automatiques du marché. Veuillez contacter votre distributeur pour obtenir des informations.
CALCULS

 Calculer la différence d'absorbances (A₂ - A₁) obtenues pour les différents calibres, et construire la courbe d'étalonnage des valeurs obtenues face aux concentrations en C3 de chaque dilution du calibre. La concentration en C3 dans l'échantillon est calculée par interpolation de sa différence (A₂- A₁) dans la courbe d'étalonnage.

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.

VALEURS DE RÉFÉRENCE⁵

Nouveaux nés : Entre 70 - 196 mg/dL.

Adultes : Entre 90 - 180 mg/dL.

Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

- Limite de linéarité :** jusqu'à 600 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec ClNa 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 :** Δ 8,86 mA/mg/dL (23,8 mg/dL), Δ 84,3 mA / mg/dL (190 mg/dL),
- Effet prozone :** Aucun effet prozone n'a été observé jusqu'à des valeurs de 1500 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 (%)		
	42,98 mg/dL	118,96 mg/dL	229,5 mg/dL
Total	6,6%	2,3%	3,1 %
Pendant l'exécution	0,9%	0,8%	0,8%
Entre l'exécution	3,7%	2,2%	1,8%
Entre jours	5,4%	0%	2,4%

- Exactitude :** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec une méthode immunoturbidimétrique de Bayer. 48 échantillons de concentrations de C3 entre 50 et 200 mg/dL ont été analysés avec les deux méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,96 et l'équation de la droite de régression y = 1.1 x - 0.6..

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

INTERFÉRENCES

 Bilirubine (40 mg/dL), hémoglobine (19 g/L) et facteurs rhumatoïdes (600 UI/mL), n'interfèrent pas. Les lipides (10 g/L) interfèrent. D'autres substances peuvent interférer⁶⁻⁷
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.

BIBLIOGRAPHIE

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Carroll MC. Annual Review of Immunology 1998; 16: 545-568.
- Lambris JD. Cruse JM Lewis RE Jr (eds): Complement Today. Complement Profiles. Basel, Karger, 1993; Vol1: 16-45.
- 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 1966; 14: 401-406.
- 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.

PRÉSENTATION

Réf : 1102094

Cont.

R1. Diluant : 1 x 40 mL

R2. Anticorps : 1 x 10 mL

Determinação quantitativa de complemento C3 (C3)
IVD

Armazenar a 2-8 °C.

UTILIZAÇÃO RECOMENDADA

Ensaio turbidimétrico para quantificação de complemento C3 em soro ou plasma humano.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos anti-C3 formam compostos insolúveis quando combinados com o C3 da amostra do doente, causando uma alteração na absorvância proporcional à concentração de C3 na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de C3 de concentração conhecida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

O complemento C3, componente de maior concentração de todo o sistema do complemento do plasma, activa este através da via clássica e alternativa. É uma proteína sintetizada pelo fígado, embora as endotoxinas bacterianas possam induzir a sua síntese através dos monócitos e fibroblastos.

A concentração de C3 aumenta como resultado de uma resposta de fase aguda (trauma, inflamação ou necrose tissular), obstrução biliar e glomeruloesclerose focal. A concentração de C3 pode estar diminuída como resultado de uma deficiência genética, pelo que aumenta o risco de infecção especialmente por bactérias encapsuladas, ou uma deficiência adquirida que causa problemas vasculares e infecções graves.

REAGENTES

Solvente (R1)	Tampão tris 20 mmol/l, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticorpo (R2)	Soro de cabra, anti-C3 humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRAÇÃO

O ensaio está padronizado comparativamente ao Material de Referência CRM 470/RPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). O PROT CAL deve ser utilizado para a calibração. O reagente (tanto monoreactivo como bireactivo) deve ser recalibrado todos os meses, quando os controlos estiverem fora de especificações e quando o lote de reagente ou a configuração do instrumento muda.

PREPARAÇÃO
Reagentes: Prontos a utilizar.

Curva de Calibração: Preparar as diluições seguintes de PROT CAL em NaCl 9 g/L como solvente. Para obter as concentrações de cada diluição de C3, multiplicar a concentração de C3 do calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição do calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

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 os reagentes após passar o prazo de validade.

Indicadores de degradação: Presença de partículas e turvação.

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

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Banho de água a 37 °C.
- Espectrofotómetro ou fotómetro com cuvette termostaticável a 37 °C para leituras a 340 nm (320-360 nm).

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.

PROCEDIMENTO

1. Aquecer os reagentes e o fotómetro (porta-cuvettes) a 37 °C.

2. Condições dos ensaios:

 Comprimento de onda: 340 nm
 Temperatura: 37°C
 Caminho de luz da cuvette: 1 cm

3. Ajustar o instrumento para zero com água destilada.

4. Pipeta numa cuvette:

Reagente R1	800 µL
Amostra ou Calibrador	10 µL

 5. Misturar e ler a absorvância (A₁) após a adição da amostra.

6. Imediatamente depois, pipetar na cuvette:

Reagente R2	200 µL
-------------	--------

 7. Misturar e ler a absorvância (A₂) exactamente 2 minutos após adicionar o reagente R2.

A Spinreact dispõe de adaptações detalhadas para a maioria dos analisadores automáticos existentes no mercado. Solicite a informação ao seu distribuidor.
CALCULOS

 Calcular a diferença de absorvâncias (A₂ - A₁) obtidas para os diferentes calibradores, e construir a curva de calibração a partir dos valores obtidos comparativamente às concentrações de C3 de cada diluição do Calibrador. A concentração de C3 na amostra é calculada por interpolação da sua diferença (A₂ - A₁) na curva de calibração.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se a utilização de soros controlo para controlar os ensaios tanto no procedimento manual como no automático. A Spinreact dispõe do PROT CONTROL cod: 1102004.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e as acções correctivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA

Recém-nascidos: Entre 70 - 196 mg/dL.

Adultos: Entre 90 - 180 mg/dL.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio intervalo de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

- Limite de linearidade:** até 600 mg/dL, nas condições descritas do ensaio. Amostras com concentrações superiores, devem diluir-se 1/5 em NaCl 9 g/L e serem testadas novamente. A linearidade depende da relação amostra/reagente. Diminuindo o volume de amostra, aumenta-se o limite superior de linearidade, embora se reduza a sensibilidade.
- Limite de detecção:** valores inferiores a 1 mg/dL originam resultados pouco reprodutíveis.
- Sensibilidade:** Δ 8,86 mA/mg/dl (23,8 mg/dL), Δ 84,3 mA / mg/dl (190 mg/dL),
- Efeito prozona:** Não se observa efeito prozona até valores de 1500 mg/L.
- Precisão:** O reagente foi testado durante 20 dias com três concentrações diferentes de soro, num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	42.98 mg/dL	118.96 mg/dL	229.5 mg/dL
Total	6.6%	2.3%	3.1%
Within Run	0.9%	0.8%	0.8%
Between Run	3.7%	2.2%	1.8%
Between Day	5.4%	0%	2.4%

- Exactidão:** O comportamento deste método (y) foi comparado com um método imunoturbidimétrico da Bayer. Foram analisadas 48 amostras com diferentes concentrações de C3 entre 50 e 200 mg/dL com ambos os métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,96 e a equação da recta de regressão y = 1,1 x - 0,6.

As características do método podem variar de acordo com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

 A bilirrubina (40 mg/dl), hemoglobina (19 g/l) e factores reumatóides (600 UI/ml), não interferem. Os lípidos (10 g/l), interferem. Outras substâncias poderão interferir⁶⁻⁷
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.

BIBLIOGRAFIA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Carroll MC. Annual Review of Immunology 1998; 16: 545-568.
- Lambiris JD. Cruse JM Lewis RE Jr (eds): Complement Today. Complement Profiles. Basel, Karger, 1993; Vol1: 16-45.
- 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 1966; 14: 401-406.
- 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.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1102094	Cont.	R1. Solvente: 1 x 40 mL
		R2. Anticorpo: 1 x 10 mL