

Complement C3

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of Complement C3 in human serum by turbidimetric assay

REF

Content

A00513 1x 10 mL C3 Antibody Reagent
 5x 25 mL PEG4 Buffer

Additionally offered:

A00704 5x 1 mL Protein Calibrator 5 Level Series
 A00580 1x 1 mL Protein Calibrator High
 A00703 1x 5 mL Protein Calibrator High
 A00701 1x 1 mL Protein Calibrator Low
 A00702 1x 5 mL Protein Calibrator Low
 A00590 1x 1 mL Protein Control
 A00800 1x 5 mL Protein Control
 A08591 1x 1 mL Protein Control Low
 A08823 1x 5 mL Protein Control Low

GENERAL INFORMATION

Method Immunoturbidimetric
Reaction Nonlinear, endpoint
Wavelength 340 nm
Assay Temperature 18 – 37 °C
Sample Serum
Measuring Range approx. 0 – 400 mg/dL
Sensitivity 20 mg/dL (Cobas Mira)
Hook Effect without sample dilution: > 3,800 mg/dL (Cobas Mira)
 with sample dilution: > 3,500 mg/dL (Cobas Mira)

Manual Test Procedure Tests/Kit*
 without sample dilution 125
 with sample dilution 166

Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS FINAL CONCENTRATION

Complement C3 Antibody Reagent
 Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for C3 variable
 Sodium azide 0.095 %

PEG4 Buffer

Phosphate buffered saline
 PEG 4 %
 Sodium azide 0.095 %

REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions: Protect from light. Close immediately after use.
 Stability: at 2 – 8 °C up to the expiration date
 at 18 – 25 °C 1 month

Do not freeze!

SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability: at 2 – 8 °C 48 hours
 at – 20 °C 3 months

Freeze only once!

MANUAL TEST PROCEDURE

Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator with 0.9% saline as diluent or use the 5 level calibrator series. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	5 µL	5 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	80 µL	80 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	25 µL	25 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	60 µL	60 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

CALCULATION

Calculate and plot $\Delta A = (A2 - A1)$ of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate ΔA optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

REFERENCE RANGE

75 – 135 mg/dL

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of C3 is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG.

DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

Complement C3 is the central point of the classic and alternative complement pathway. C3 is a constituent of C5 convertase. On activation split products of C3 have important biological functions. C3b is an opsonin and involved in immune adherence. C3a is an anaphylatoxin and a chemotoxin. C3 behaves also like an acute phase protein, therefore increased levels may be found in acute inflammatory reactions. Decreased levels are reported in complex disease, recurrent immune infections with pyrogenic bacteria, various glomerulonephritides and in congenital deficiencies.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

20 mg/dL (Cobas Mira)

ACCURACY

Controls were assayed in duplicate on a Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Liquicheck 1 (BIORAD)	78 (62 – 93)	84.8
Liquicheck 2 (BIORAD)	206 (165 – 247)	216.1
Seronorm L (NYCOMED)	64 (51 – 77)	66.9
Seronorm N (NYCOMED)	162 (130 – 192)	156
Seronorm H (NYCOMED)	141 (113 – 169)	139.7
Immunology 1 (CIBA CORNING)	84 (71 – 97)	83.5
Immunology 2 (CIBA CORNING)	183 (156 – 210)	187.5

PRECISION

Intra-Assay Precision

3 Serum Samples were consecutively measured on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	20	50.3	1.42	2.82
Medium	20	134.3	4.63	3.43
High	20	286.2	9.39	3.28

Inter-Assay Precision

2 Control sera were measured daily on the Mega analyzer after calibration.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	65	85.6	2.19	2.56
Medium	65	47.1	1.26	2.68

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 0.9978x - 2.4553$; $r = 0.9965$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Triglycerides	2500 mg/dL	Hemoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Sodium Citrate	1000 mg/dL
Heparin	50 mg/dL		

QUALITY CONTROL

All Control sera with C3 values measured by this method may be used. We recommend the Dialab Protein Control and the Protein Control Low.

CALIBRATION

The assay requires the use of C3 serum Calibrators. We recommend the Dialab Protein Calibrator 5 Level Series, the Protein Calibrator High or the Protein Calibrator Low.

AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

WARNINGS AND PRECATIONS

- The C3 reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

REFERENCES

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)
- Müller-Eberhard, H.H., Ann. Rev. Biochem. 44, 697 (1975)
- Lachmann, P.J., Hobart. M.J. and Ashton, W.P. (1973) in Handbook of Experimental Immunology, 2nd Ed., 16, Ed. D.M. Weir, Blackwell Scientific Publications



Komplement C3

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von Komplement C3 in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF	Inhalt
A00513	1x 10 mL C3 Antikörperreagenz 5x 25 mL PEG4 Puffer

Zusätzlich wird angeboten:

A00704	5x 1 mL Protein Kalibrator 5 Level Serie
A00580	1x 1 mL Protein Kalibrator Hoch
A00703	1x 5 mL Protein Kalibrator Hoch
A00701	1x 1 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00702	1x 5 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00590	1x 1 mL Protein Kontrolle
A00800	1x 5 mL Protein Kontrolle
A08591	1x 1 mL Protein Kontrolle Niedrig
A08823	1x 5 mL Protein Kontrolle Niedrig

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode:	Immunoturbidimetrisch
Reaktion:	Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge:	340 nm
Testtemperatur:	18 – 37 °C
Probe:	Serum
Messbereich:	ca. 0 – 400 mg/dL
Sensitivität:	20 mg/dL (Cobas Mira)
Hook-Effekt	ohne Probenverdünnung: > 3,800 mg/dL (Cobas Mira) mit Probenverdünnung: > 3,500 mg/dL (Cobas Mira)

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*

ohne Probenverdünnung	125
mit Probenverdünnung	166

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

KOMPONENTEN	ENDKONZENTRATION
C3 Antikörperreagenz	
Turbidimetrie-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für C3	variabel
Natriumazid	0.095 %

PEG4 Puffer

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung	
PEG	4 %
Natriumazid	0.095 %

REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZIENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Bedingungen:	Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.	
Haltbarkeit:	bei 2 – 8 °C	bis zum Verfallsdatum
	bei 18 – 25 °C	1 Monat

Nicht einfrieren!

PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Haltbarkeit:	bei 2 – 8 °C	48 Stunden
	bei – 20 °C	3 Monate

Nur einmal einfrieren!

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

Testdurchführung ohne Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig

Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen oder die 5 Level Kalibratorserie verwenden. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	5 µL	5 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	80 µL	80 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9% Kochsalzlösung verdünnen

Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	25 µL	25 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	60 µL	60 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

BERECHNUNG

Das $\Delta A = (A2 - A1)$ jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebenen Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die ΔA optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

REFERENZBEREICH

75 – 135 mg/dL

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für C3 basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Komplement C3 ist der zentrale Punkt des klassischen und alternativen Komplementsystems. C3 ist ein Bestandteil der C5-Konvertase. Bei Aktivierung haben Spaltprodukte von C3 wichtige biologische Funktionen. C3b ist ein Opsonin und involviert bei Immunadhärenz. C3a ist ein Anaphylatoxin und ein Chemotoxin. C3 verhält sich außerdem wie ein Akutphasen-Protein, weshalb erhöhte Werte bei akuten Entzündungsreaktionen vorkommen. Erniedrigte Werte findet man bei Komplexkrankheiten, wiederkehrenden Immuninfektionen mit pyrogenen Bakterien, verschiedenen Glomerulonephritiden und bei Erbkrankheiten.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

20 mg/dL (Cobas Mira)

GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden am Cobas Mira in Doppelbestimmung getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Liquicheck 1 (BIORAD)	78 (62 – 93)	84.8
Liquicheck 2 (BIORAD)	206 (165 – 247)	216.1
Seronorm L (NYCOMED)	64 (51 – 77)	66.9
Seronorm N (NYCOMED)	162 (130 – 192)	156
Seronorm H (NYCOMED)	141 (113 – 169)	139.7
Immunology 1 (CIBA CORNING)	84 (71 – 97)	83.5
Immunology 2 (CIBA CORNING)	183 (156 – 210)	187.5

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

3 Serumproben wurden nacheinander auf dem Cobas Mira getestet.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
Niedrig	20	50.3	1.42	2.82
Mittel	20	134.3	4.63	3.43
Hoch	20	286.2	9.39	3.28

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration wurden 2 Kontrollserien täglich auf dem Mega Analyzer getestet.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
Niedrig	65	85.6	2.19	2.56
Mittel	65	47.1	1.26	2.68

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:
 $y = 0.9978x - 2.4553$; $r = 0.9965$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Triglyceride	2500 mg/dL	Hämoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Natrium-Citrat	1000 mg/dL
Heparin	50 mg/dL		

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Kontrollserien, bei denen C3 mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Protein Kontrolle und die Protein Kontrolle Niedrig.

KALIBRATION

Für diesen Test werden C3 Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen die Dialab Protein Kalibrator 5 Level Serie, den Protein Kalibrator Hoch oder den Protein Kalibrator Niedrig.

AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die C3 Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet

ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

BIBLIOGRAPHIE

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)
- Müller-Eberhard, H.H., Ann. Rev. Biochem. 44, 697 (1975)
- Lachmann, P.J., Hobart, M.J. and Ashton, W.P. (1973) in Handbook of Experimental Immunology, 2nd Ed., 16, Ed. D.M. Weir, Blackwell Scientific Publications

