

Complement C4

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of Complement C4 in human serum by turbidimetric assay

REF

Content

A00514 1x 10 mL C4 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 – 80 mg/dL
Sensitivity 2 mg/dL
Hook Effect > 600 mg/dL

Manual Test Procedure Tests/Kit*
 without sample dilution 142

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 C4 Antibody Reagent

Turbidimetric grade antibody raised in the goat,
 monospecific for C4
 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	20 µL	20 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	70 µL	70 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

9 – 36 mg/dL

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

TEST PRINCIPLE

The assay of C4 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

C4 is a constituent of C3 convertase and C5 convertase. Decreased levels are found in hereditary angioneurotic oedema, immune complex diseases and congenital deficiencies.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

2 mg/dL (Cobas Mira)

ACCURACY

Controls were assayed in duplicate.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Liquicheck 1 (BIORAD)	16 (13 - 19)	16.7
Liquicheck 2 (BIORAD)	52 (42 - 62)	47.7
Seronorm L (NYCOMED)	10 (8 - 12)	9.4
Seronorm N (NYCOMED)	34 (27 - 41)	31.9
Seronorm H (NYCOMED)	45 (36 - 54)	43.0
Immunology 1 (CIBA CORNING)	17.7 (14.2 - 21.2)	19.3
Immunology 2 (CIBA CORNING)	35.3 (28.2 - 42.4)	38.2

PRECISION

Intra-Assay Precision

3 Serum Samples were consecutively measured 20 times on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V.
Low	20	9.9	0.45	4.54
Medium	20	26.3	0.57	2.18
High	20	52.9	2.10	3.97

Inter-Assay Precision

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

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V.
Ortho 1	64	21.4	0.66	3.08
Ortho 2	64	13.5	0.56	4.17

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 0.93418x - 0.1518$; $r = 0.9940$

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	Turbidity	5 %

QUALITY CONTROL

All Control sera with C4 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 C4 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 C4 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 C4

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von Komplement C4 in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF	Inhalt
A00514	1x 10 mL C4 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:	Immunturbidimetrisch
Reaktion:	Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge:	340 nm
Testtemperatur:	18 – 37 °C
Probe:	Serum
Messbereich:	ca. 0 – 80 mg/dL
Sensitivität:	2 mg/dL (Cobas Mira)
Hook-Effekt	> 600mg/dL

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*
ohne Probenverdünnung 142

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

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

REAGENZENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

C4 Antikörperreagenz

Turbidimetrie-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für C4	variabel
Natriumazid	0.095 %

PEG4 Puffer

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung	
PEG	4 %
Natriumazid	0.095 %

REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZENSTABILITÄT 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	20 µL	20 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	70 µL	70 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

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

9 – 36 mg/dL

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für C4 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

C4 ist ein Bestandteil der C3- und der C5-Konvertase. Erniedrigte Werte findet man bei angeborenen angioneurotischen Ödemen, Immunkomplexkrankheiten und bei Erbkrankheiten.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

2 mg/dL (Cobas Mira)

GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden in Doppelbestimmung getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Liquicheck 1 (BIORAD)	16 (13 - 19)	16.7
Liquicheck 2 (BIORAD)	52 (42 - 62)	47.7
Seronorm L (NYCOMED)	10 (8 - 12)	9.4
Seronorm N (NYCOMED)	34 (27 - 41)	31.9
Seronorm H (NYCOMED)	45 (36 - 54)	43.0
Immunology 1 (CIBA CORNING)	17.7 (14.2 - 21.2)	19.3
Immunology 2 (CIBA CORNING)	35.3 (28.2 - 42.4)	38.2

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

3 Serumproben wurden nacheinander je 20x auf dem Cobas Mira getestet.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	9.9	0.45	4.54
Mittel	20	26.3	0.57	2.18
Hoch	20	52.9	2.10	3.97

Präzision zwischen den Serien

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

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Ortho 1	64	21.4	0.66	3.08
Ortho 2	64	13.5	0.56	4.17

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:

$$y = 0.93418x - 0.1518; r = 0.9940$$

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	Trübung	5 %

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Kontrollseren, bei denen C4 mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Protein Kontrolle und die Protein Kontrolle Niedrig.

KALIBRATION

Für diesen Test werden C4 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 C4 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

