

**Método inmunoturbidimétrico para la determinación del componente C3 del complemento****SIGNIFICACION CLINICA**

El C3 es una  $\beta$ -2-proteína que constituye el componente central de la vía clásica y de la alternativa del complemento. Se comporta además como una proteína de fase aguda, por lo tanto, niveles séricos aumentados se relacionan con enfermedades inflamatorias agudas. Niveles séricos disminuidos se observan en enfermedades autoinmunes, glomerulonefritis, deficiencias congénitas, etc.

**FUNDAMENTOS DEL METODO**

La proteína C3 del complemento reacciona con el anticuerpo específico anti-C3 formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez provocada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de C3 en la muestra y puede medirse espectrofotométricamente.

**REACTIVOS PROVISTOS**

**A. Reactivo A:** solución fisiológica tamponada, pH 7,35  $\pm$  0,10.

**B. Reactivo B:** anticuerpo monoespecífico anti-C3.

**REACTIVOS NO PROVISTOS**

- Solución fisiológica.
- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

**INSTRUCCIONES PARA SU USO**

**Reactivos Provistos:** listos para usar.

**PRECAUCIONES**

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

**ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

**Reactivos Provistos:** estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez que los frascos han sido abiertos, deben ser conservados herméticamente cerrados en refrigerador. No congelar.

**MUESTRA**

Suero o plasma heparinizado

- Recolección:** obtener la muestra de la manera usual.
- Aditivos:** en caso de que la muestra a emplear sea

plasma, se recomienda no emplear niveles en exceso de heparina como anticoagulante.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** no emplear sueros hemolizados o contaminados.

No se observan interferencias por bilirrubina hasta 20 mg/dl, triglicéridos hasta 25 g/l, ni hemoglobina hasta 10 g/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** se recomienda usar suero preferentemente fresco. Si el ensayo no puede ser realizado en el mismo día, la muestra puede ser conservada 48 horas en refrigerador (2-10°C). En caso que se deba procesar en un período más largo de tiempo, debe conservarse inmediatamente a -20°C.

**MATERIAL REQUERIDO** (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Micropipetas y pipetas capaces de medir los volúmenes indicados.
- Tubos de Kahn o hemólisis.
- Reloj o timer.

**CONDICIONES DE REACCION**

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (25°C). El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C.
- Tiempo de reacción: 30 minutos

**PROCEDIMIENTO****CURVA DE CALIBRACION**

Realizar en tubos de Kahn, las siguientes diluciones en solución fisiológica, del Calibrador Proteínas nivel alto: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 y 1:160, empleando solución fisiológica como punto cero.

<b>Calibrador Proteínas diluido</b>	70 $\mu$ l
-------------------------------------	------------

<b>Reactivo A</b>	900 $\mu$ l
-------------------	-------------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm ( $DO_{340}$ ) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

<b>Reactivo B</b>	120 $\mu$ l
-------------------	-------------

Mezclar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente.

Leer la absorbancia a 340 nm ( $DO_2$ ), llevando el aparato a cero con agua destilada.

Calcular la diferencia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) para cada dilución del Calibrador Proteínas, incluyendo el punto cero.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) en función de la concentración en mg/dl (g/l) del Calibrador Proteínas.

#### PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

Realizar diluciones 1:10 de las muestras en solución fisiológica.

<b>Muestra diluida</b>	70 ul
------------------------	-------

<b>Reactivo A</b>	900 ul
-------------------	--------

Homogeneizar y leer la absorbancia a 340 nm ( $DO_1$ ) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

<b>Reactivo B</b>	120 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm ( $DO_2$ ), llevando el aparato a cero con agua destilada.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta diferencia ( $\Delta A$ ) en la curva de calibración para determinar la concentración en mg/dl correspondiente a la muestra estudiada.

Las muestras con absorbancias superiores a la del Calibrador Proteínas nivel alto, deben ser diluidas 1:2 con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por dos.

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA.

Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA.

El Control se procesa de la misma manera que las muestras.

#### VALORES DE REFERENCIA

90 - 180 mg/dl (0,9 - 1,8 g/l).

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia.

#### CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$C3 \text{ (mg/dl)} \times 10 = C3 \text{ (mg/l)}$

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La turbidez y la presencia de partículas en las muestras, pueden interferir con la prueba. Por lo tanto, las partículas que puedan resultar de una coagulación incompleta, o de una desnaturalización de las proteínas, deben ser removidas por centrifugación antes de proceder a su ensayo.

Las muestras que presentan absorbancias superiores al calibrador más alto de la curva de calibración, deberán ser diluidas y ensayadas nuevamente. La concentración de C3 para dichas muestras se obtiene multiplicando el resultado obtenido por el factor de dilución correspondiente.

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando simultáneamente 20 repeticiones de una misma muestra, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	C.V.
115,9 mg/dl	$\pm 1,12 \text{ mg/dl}$	1,0 %
142,1 mg/dl	$\pm 2,86 \text{ mg/dl}$	2,0 %

**b) Rango dinámico:** se pueden obtener valores entre la concentración de calibrador más baja y más alta de la curva de calibración (alrededor de 400 mg/dl).

**c) Límite de detección:** la mínima concentración cuantificable de C3 es 20 mg/dl.

#### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Para la calibración, se debe utilizar **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

#### PRESENTACION

- 1 x 36 ml Reactivo A

1 x 3 ml Reactivo B

(Cód. 1008130)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1513264)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009342)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009215)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009643)

- 1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009951)

#### BIBLIOGRAFIA

- Dati, F. - J. of I.F.C.C. VIII/1:29 (1996).

- Ahmed, A. et al. - Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2/5:509 (1995).

- Butts, W. et al. - Clin. Chem. 23/3:511 (1977).

- Buffone, G. et al. - Clin. Chem. 23/6:994 (1977).

- Borque, L. et al. - Clin. Biochem. 16/6:330 (1983).

- Prince, C. et al. - Ann. Clin. Biochem. 20:1 (1983).

- Whicher, J. - Clin. Chem. 40/6:934 (1994).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



C3

## Método imunoturbidimétrico para a determinação do componente C3 do complemento

### SIGNIFICADO CLÍNICO

O C3 é uma  $\beta$ -2-proteína que constitui o componente central da via clássica e da alternativa do complemento.

Além disso, comporta-se como uma proteína de fase aguda, portanto, os níveis séricos aumentados estão relacionados com doenças inflamatórias agudas. Níveis séricos baixos se observam em doenças autoimunes, glomerulonefrite, deficiências congênitas, etc.

### FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A proteína C3 do complemento reage com o anticorpo específico anti-C3 formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de C3 na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

### REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** solução fisiológica tamponada, pH 7,35  $\pm$  0,10.

**B. Reagente B:** anticorpo monoespecífico anti-C3.

### REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Solução fisiológica
- **Calibrador Proteínas nível alto Turbitest AA** da Wiener lab.

### INSTRUÇÕES DE USO

**Reagentes Fornecidos:** prontos para uso.

### PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material infectante. Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

### ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos:** estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Uma vez aberto, os frascos devem-se conservar sob refrigeração perfeitamente fechados. Não congelar.

### AMOSTRA

Soro ou plasma com heparina

**a) Coleta:** obter a amostra da maneira habitual.

**b) Aditivos:** caso que a amostra a ser analisada seja plasma, recomenda-se não utilizar heparina em excesso como anticoagulante.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** não utilizar soros hemolisados ou contaminados.

Não se observam interferências por bilirrubina até 20 mg/dl, triglicerídeos até 25 g/l nem hemoglobina até 10 g/dl. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** recomenda-se utilizar soros preferivelmente frescos. Caso que o ensaio não seja realizado no mesmo dia, a amostra pode ser conservada 48 horas sob refrigeração (2-10°C). Caso que deva-se processar num período maior a amostra deve-se conservar imediatamente a -20°C.

### MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados.
- Tubos de Kahn ou hemólise.
- Relógio ou timer.

### CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 340 nm
- Temperatura de reação: temperatura ambiente (25°C). O controle da temperatura não é crítico, podendo oscilar entre 22 e 30°C.
- Tempo de reação: 30 minutos.

### PROCEDIMENTO

#### CURVA DE CALIBRAÇÃO

Realizar em tubos de Kahn as seguintes diluições em solução fisiológica do Calibrador Proteínas nível alto: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 e 1:160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

<b>Calibrador Proteínas diluído</b>	70 ul
-------------------------------------	-------

<b>Reagente A</b>	900 ul
-------------------	--------

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm ( $DO_{340}$ ) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

<b>Reagente B</b>	120 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente.

Ler a absorbância a 340 nm ( $DO_2$ ) zerando o aparelho com água destilada. Calcular a diferença de absorbância ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) para cada diluição do Calibrador Proteínas, incluindo o ponto zero.

Representar numa folha de papel marcada com milímetros as diferenças de absorbância  $\Delta A$  em função da concentração em mg/dl (g/l) do Calibrador Proteínas.

#### PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS

Realizar diluições 1:10 da Amostra em solução fisiológica.

<b>Amostra diluída</b>	70 ul
------------------------	-------

<b>Reagente A</b>	900 ul
-------------------	--------

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm ( $DO_1$ ) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

<b>Reagente B</b>	120 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm ( $DO_2$ ) zerando o aparelho com água destilada.

#### CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Calcular a diferença de absorbância ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolar os dados  $\Delta A$  na curva de calibração para determinar a concentração em mg/dl (g/l) que corresponde à amostra estudada.

As amostras com absorbância superior à do Calibrador Proteínas nível alto devem ser diluídas 1:2 com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos por dois.

#### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Control Imunológico nível 1 Turbitest AA.

Control Imunológico nível 2 Turbitest AA.

O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

#### VALORES DE REFERÊNCIA

90 - 180 mg/dl (0,9 - 1,8 g/l).

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.

#### CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

$C3 \text{ (mg/dl)} \times 10 = C3 \text{ (mg/l)}$

#### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

A turbidez e partículas nas amostras podem interferir com a prova. Por tal motivo, as partículas que possam resultar de uma coagulação incompleta ou de uma desnaturação das proteínas devem ser removidas pela centrifugação antes de proceder ao ensaio.

As amostras que apresentam absorbâncias maiores ao calibrador mais alto da curva de calibração, deverão ser diluídas e ensaiadas novamente. A concentração de C3 para estas amostras obtém-se multiplicando o resultado obtido pelo fator de diluição correspondente.

#### DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** processando no mesmo tempo 20 duplicatas de uma mesma amostra, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
115,9 mg/dl	$\pm 1,12 \text{ mg/dl}$	1,0 %
142,1 mg/dl	$\pm 2,86 \text{ mg/dl}$	2,0 %

**b) Faixa dinâmica:** podem-se obter valores entre a concentração do calibrador mais baixa e mais alta da curva de calibração (por volta de 400 mg/dl).

**c) Limite de detecção:** a mínima concentração quantificável de C3 é 20 mg/dl.

#### PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador. Para a calibração, deve-se utilizar **Calibrador Proteínas nível alto** da Wiener lab.

#### APRESENTAÇÃO

- 1 x 36 ml Reagente A

1 x 3 ml Reagente B

(Cód. 1008130)

- 1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1513264)

- 1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009342)

- 1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009215)

- 1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009643)

- 1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009951)

#### REFERÊNCIAS

- Dati, F. - J. of I.F.C.C. VIII/1:29 (1996).

- Ahmed, A. et al. - Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2/5:509 (1995).

- Butts, W. et al. - Clin. Chem. 23/3:511 (1977).

- Buffone, G. et al. - Clin. Chem. 23/6:994 (1977).

- Borque, L. et al. - Clin. Biochem. 16/6:330 (1983).

- Prince, C. et al. - Ann. Clin. Biochem. 20:1 (1983).

- Whicher, J. - Clin. Chem. 40/6:934 (1994).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



C3

### Immunoturbidimetric method for the determination of C3 complement's component

#### SUMMARY

C3 is a  $\beta$ -2-protein that constitutes the central component of the complement's classical and alternative pathway. It also acts as an acute phase protein, thus increased levels in serum are related with acute inflammatory diseases. Low levels in serum are found in autoimmune diseases, glomerulonephritis, genetic deficiencies, etc.

#### PRINCIPLE

Complement's C3 protein reacts with the specific antibody anti-C3 yielding insoluble immune complexes. The turbidity produced by these immune complexes is proportional to the C3 concentration in the sample, and can be measured spectrophotometrically.

#### PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A:** buffered saline solution, pH  $7.35 \pm 0.10$ .

**B. Reagent B:** antibody monospecific to C3.

#### NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline solution.
- Wiener lab.'s **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA**.

#### INSTRUCTIONS FOR USE

**Provided Reagents:** ready to use.

#### WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use. All samples from patients should be handled as capable of transmitting infection. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories. The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

#### STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagents:** stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. After bottle's opening, store them hermetically capped at 2-10°C. Do not freeze.

#### SAMPLE

Serum or heparinized plasma.

- a) Collection:** obtain in the usual way.
- b) Additives:** if plasma is used, it is not recommended to use excess levels of heparin as anticoagulant.
- c) Known interfering substances:** do not use contaminated or hemolyzed sera.

No interferences have been observed with bilirubin up to 20 mg/dl, triglycerides up to 25 g/l, and hemoglobin up to 10 g/dl. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

**d) Stability and storage instructions:** the serum should be preferably fresh. In case the test cannot be performed on the day, the sample should be stored for up 48 hours at 2-10°C. In case the test cannot be performed within this period, it should be immediately stored at -20°C.

#### REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Spectrophotometric cuvettes.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Kahn or hemolysis tubes.
- Stopwatch.

#### ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm
- Reaction temperature: room temperature (25°C). Temperature control is not critical, it can range between 22 and 30°C.
- Reaction time: 30 minutes

#### PROCEDURE

##### CALIBRATION CURVE

In Kahn tubes dilute the Calibrador Proteínas nivel alto with saline solution 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160, using saline solution as the zero point.

<b>Diluted Calibrador Proteínas</b>	70 ul
-------------------------------------	-------

<b>Reagent A</b>	900 ul
------------------	--------

Homogenize and measure absorbance of each dilution ( $OD_1$ ) at 340 nm, setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:

<b>Reagent B</b>	120 ul
------------------	--------

Mix and incubate 30 minutes at room temperature. Measure absorbance at 340 nm ( $OD_2$ ), setting the instrument to zero with distilled water.

Calculate the absorbance difference ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) for each Calibrador Proteínas dilution, including the zero point.

Draw on graph paper the  $\Delta A$  absorbance differences ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) based on the Calibrador Proteínas concentration in mg/dl (g/l).

## SAMPLES PROCEDURE

Dilute the samples 1:10 with saline solution.

<b>Diluted Sample</b>	70 ul
-----------------------	-------

<b>Reagent A</b>	900 ul
------------------	--------

Homogenize and measure absorbance at 340 nm ( $OD_1$ ), setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:

<b>Reagent B</b>	120 ul
------------------	--------

Mix and incubate 30 minutes at room temperature. Measure absorbance at 340 nm ( $OD_2$ ), setting the instrument to zero with distilled water.

## CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) for each tested sample. Interpolate this  $\Delta A$  in the calibration curve to determine the concentration in mg/dl (g/l) corresponding to the sample under study. Samples with absorbance values higher than the absorbance measurement for **Calibrador Proteínas nivel alto** should be diluted 1:2 with saline solution and retested. Multiply the obtained result by 2.

## QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab.'s **Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA and Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA**.

The Control should be processed in the same manner as samples.

## REFERENCE VALUES

90 - 180 mg/dl (0.9-1.8 g/l)

Each laboratory should set its own reference values.

## SI SYSTEM UNITS CONVERSION

$C3 \text{ (mg/dl)} \times 10 = C3 \text{ (mg/l)}$

## PROCEDURE LIMITATIONS

Turbidity and particles in the sample may interfere with the test. Therefore, the particles that may be the result of an incomplete coagulation or protein denaturalization should be removed by centrifugation before testing the sample.

The samples showing higher absorbance values than the highest calibrator of the calibration curve should be diluted and retested. C3 concentration for such samples is obtained multiplying the obtained result by the corresponding dilution factor.

## PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** simultaneously processing 20 replicates of the same sample, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
115.9 mg/dl	$\pm 1.12 \text{ mg/dl}$	1.0 %
142.1 mg/dl	$\pm 2.86 \text{ mg/dl}$	2.0 %

**b) Dynamic range:** values can be obtained between the lowest and highest calibrator concentrations of the calibration curve (400 mg/dl approximately).

**c) Detection limit:** the minimum detectable concentration change of C3 is 20 mg/dl.

## PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

Refer to the specific applications of each autoanalyzer. For calibration must be use Wiener lab's **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** following the autoanalyzer requirements.

## WIENER LAB. PROVIDES

- 1 x 36 ml Reagent A  
1 x 3 ml Reagent B  
(Cat. N° 1008130)

- 1 x 60 ml Reagent A  
1 x 5 ml Reagent B  
(Cat. N° 1513264)

- 1 x 60 ml Reagent A  
1 x 5 ml Reagent B  
(Cat. N° 1009342)

- 1 x 60 ml Reagent A  
1 x 5 ml Reagent B  
(Cat. N° 1009215)

- 1 x 60 ml Reagent A  
1 x 5 ml Reagent B  
(Cat. N° 1009643)

- 1 x 60 ml Reagent A  
1 x 5 ml Reagent B  
(Cat. N° 1009951)

## REFERENCES

- Dati, F. - J. of I.F.C.C. VIII/1:29 (1996).
- Ahmed, A. et al. - Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2/5:509 (1995).
- Butts, W. et al. - Clin. Chem. 23/3:511 (1977).
- Buffone, G. et al. - Clin. Chem. 23/6:994 (1977).
- Borque, L. et al. - Clin. Biochem. 16/6:330 (1983).
- Prince, C. et al. - Ann. Clin. Biochem. 20:1 (1983).
- Whicher, J. - Clin. Chem. 40/6:934 (1994).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



C3

Nr kat. 1513264 Nr kat. 1009643  
 Nr kat. 1009342 Nr kat. 1009951  
 Nr kat. 1009215 Nr kat. 1008130

### Immunoturbidymetryczna metoda do ilościowego oznaczania składnika C3 dopełniacza

#### WSTĘP

C3 jest białkiem  $\alpha$ -2, które stanowi główny składnik drogi głównej i alternatywnej dopełniacza. Pełni również rolę białka ostrej fazy i jego wzrost jest obecny w ostrych stanach zapalnych. Niski poziom obserwuje się w chorobach autoimmunologicznych, zapaleniu kłębuszkowym nerek, zaburzeniach genetycznie uwarunkowanych, itp.

#### ZASADA DZIAŁANIA

Białko C3 dopełniacza reaguje ze specyficznym przeciwciałem przeciw C3 tworząc nierozpuszczalny kompleks immunologiczny. Zmętnienie powstające w tym procesie jest proporcjonalne do stężenia białka C3 w badanym materiale i może być mierzone spektrofotometrycznie.

#### DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** buforowany roztwór soli fizjologicznej, pH  $7,35 \pm 0,10$ .

**B. Odczynnik B:** monospecyficzne przeciwciało przeciw C3.

#### NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Roztwór soli fizjologicznej.

- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** Wiener lab.

#### INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

#### OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro".

Każdy materiał badany pobrany od pacjenta powinien być traktowany jako potencjalnie zakaźny.

Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

#### TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Po otwarciu butelki przechowywać hermetycznie zamknięte w lodówce. Nie zamrażać.

#### MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze heparynizowane.

**a) Pobranie:** pobrać w klasyczny sposób.

**b) Substancje dodatkowe:** jeśli materiałem jest osocze nie zaleca się zastosowania nadmiernej ilości heparyny jako antykoagulantu.

**c) Znane interakcje:** nie używać zanieczyszczonej lub shemolizowanej surowicy krwi.

Nie obserwowano interakcji z bilirubiną do poziomu 20 mg/dl, trójglicerydami do 25 g/l, lub hemoglobina do 10 g/dl.

Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

**d) Trwałość i instrukcja przechowywania:** surowica krwi powinna być świeża. W przypadku gdy badanie nie może zostać wykonane w tym samym dniu, materiał badany może być przechowywany do 48 godzin w lodówce (2-10°C). Jeśli badania nie można przeprowadzić w tym czasie należy materiał natychmiast po pobraniu zamrozić i przechowywać w temp. -20°C.

#### WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr.

- Kuwety spektrofotometryczne.

- Mikropipety i pipety do pomiaru określonej objętości

- Probówki Kahna lub do hemolizy.

- Stoper.

#### WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 340 nm

- Temperatura reakcji: temperatura pokojowa (25°C). Temperatura nie jest krytyczna dla reakcji, może się wahać pomiędzy 22 a 30°C.

- Czas reakcji: 30 minut

#### PROCEDURA

##### KRZYWA KALIBRACJI

W probówkach Kahn'a rozpuścić Calibrador Proteínas nivel alto w roztworze soli fizjologicznej 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 oraz 1:160, używając soli fizjologicznej jako punktu zero.

<b>Rozcieńczony Calibrador Proteínas</b>	70 $\mu$ l
--	------------

<b>Odczynnik A</b>	900 $\mu$ l
--------------------	-------------

Homogenizować i odczytać absorbancję każdego rozcieńczenia ( $OD_1$ ) przy 340 nm, ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać:

<b>Odczynnik B</b>	120 $\mu$ l
--------------------	-------------

Zamieszać i inkubować 30 minut w temperaturze pokojowej. Odczytać absorbancję przy 340 nm ( $OD_2$ ), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej.

Obliczyć różnicę absorbancji ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) dla każdego rozcieńczenia Calibrador Proteínas włącznie z punktem zero.

Na papierze milimetrym narysować zmianę różnicy absorbancji  $\Delta A$  ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) wobec stężenia Calibrador Proteínas w mg/dl (g/l).

PROCEDURA DLA MATERIAŁU BADANEGO  
Rozcieńczyć próbki 1:10 solą fizjologiczną.

Rozcieńczony materiał badany	70 ul
------------------------------	-------

Odczynnik A	900 ul
-------------	--------

Homogenizować i odczytać absorbancję przy 340 nm ( $OD_1$ ), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać:

Odczynnik B	120 ul
-------------	--------

Zamieszać i inkubować 30 minut w temperaturze pokojowej. Odczytać absorbancję przy 340 nm ( $OD_2$ ), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej.

Poziom	S.D.	C.V.
115,9 mg/dl	$\pm 1,12$ mg/dl	1,0 %
142,1 mg/dl	$\pm 2,86$ mg/dl	2,0 %

**b) Zakres dynamiczny:** wartości zawierają się pomiędzy najniższym i najwyższym stężeniem kalibratora na krzywej kalibracji (około 400 mg/dl).

**c) Granica wykrywalności:** najmniejsza wykrywalna zmiana stężenia dla C3 wynosi 20 mg/dl.

**PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH**  
Należy zapoznać się ze specyfikacją danego analizatora automatycznego. Do kalibracji zastosować **Calibrador Proteínas nivel alto** Wiener lab., zgodnie ze specyfikacją analizatora automatycznego.

#### WIENER LAB. DOSTARCZA

- 1 x 36 ml Odczynnik A  
1 x 3 ml Odczynnik B  
(Nr kat. 1008130)

- 1 x 60 ml Odczynnik A  
1 x 5 ml Odczynnik B  
(Nr kat. 1513264)

- 1 x 60 ml Odczynnik A  
1 x 5 ml Odczynnik B  
(Nr kat. 1009342)

- 1 x 60 ml Odczynnik A  
1 x 5 ml Odczynnik B  
(Nr kat. 1009215)

- 1 x 60 ml Odczynnik A  
1 x 5 ml Odczynnik B  
(Nr kat. 1009643)

- 1 x 60 ml Odczynnik A  
1 x 5 ml Odczynnik B  
(Nr kat. 1009951)

#### ŹRÓDŁA

- Dati, F. - J. of I.F.C.C. VIII/1:29 (1996).
- Ahmed, A. et al. - Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2/5:509 (1995).
- Butts, W. et al. - Clin. Chem. 23/3:511 (1977).
- Buffone, G. et al. - Clin. Chem. 23/6:994 (1977).
- Borque, L. et al. - Clin. Biochem. 16/6:330 (1983).
- Prince, C. et al. - Ann. Clin. Biochem. 20:1 (1983).
- Whicher, J. - Clin. Chem. 40/6:934 (1994).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

#### OBLICZENIA

Obliczyc różnicę absorbancji ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) dla każdej badanej próbki materiału. Nanieść  $\Delta A$  na krzywą kalibracji celem wyznaczenia stężenia w mg/dl (g/l) odpowiadającego każdej badanej próbce. Materiał badany o absorbancji powyżej Calibrador Proteínas nivel alto należy rozcieńczyć 1:2 solą fizjologiczną i powtórzyć badanie. Pomnożyć otrzymane wyniki przez 2.

#### METODA KONTROLI JAKOŚCI

**Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA** Wiener lab.

**Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** Wiener lab.

Procedura dla Próby kontrolnej jest dokładnie taka sama jak dla materiału nieznanego.

#### WARTOŚCI REFERENCYJNE

90 - 180 mg/dl (0,9 - 1,8 g/l)

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

#### KONWERSJA JEDNOSTEK SI

$C3 \text{ (mg/dl)} \times 10 = C3 \text{ (mg/l)}$

#### OGRANICZENIA PROCEDURY

Zmętnienie lub cząstki w materiale badanym mogą wpływać na test. Takie cząstki mogą być wynikiem niepełnego krzepnięcia lub denaturalizacji białek i należy je usunąć przez odwirowanie przed badaniem próbki.

Materiał badany o absorbancji powyżej absorbancji najwyższego kalibratora na krzywej kalibracji należy rozcieńczyć i powtórzyć badanie. Wartości stężeń białka C3 dla takich próbek materiału należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.


#### CHARAKTERYSTYKA TESTU


**a) Powtarzalność:** równocześnie wykonano 20 powtórzeń testu tego samego materiału badanego i otrzymano następujące wyniki:





# SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrąca

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator

 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
PM-1102-198

IVD



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina