

Complemento C3 MonlabTest®



Turbidimetría

Determinación cuantitativa del complemento C3 (C3)

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. 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 fribroblastos. 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	Ref.: MO-165044 Multicalibrador Proteínas

CALIBRACIÓN

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el Multicalibrador de Proteínas MonlabTest 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.

PREPARACIÓN

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Multicalibrador de Proteínas MonlabTest en NaCl 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
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACIÓN 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 su funcionalidad.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable 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.

MONLAB dispone de detalladas adaptaciones a la mayoría de los analizadores automáticos del mercado.

CÁLCULOS

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. MONLAB dispone del Multicontrol Proteínas MonlabTest (MO-165045).

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.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. **Rango de medida:** hasta 400 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 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.

2. **Límite de detección:** valores por debajo de 1 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. **Sensibilidad:** Δ8,86 mA/mg/dL (23,8 mg/dL), Δ4,3 mA/mg/dL (190 mg/dL).

4. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 1500 mg/dL.

5. **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%

6. **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)² fue de 0,96 y la ecuación de la recta de regresión y = 1,1x - 0,6.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (20 g/L) y factores reumatoides (600 UI/mL), no interfieren. Los lípidos (5 g/L) interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁶⁻⁷

NOTAS

1. 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.

BIBLIOGRAFÍA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Carrol MC. Annual Review of Immunology 1998; 16: 545-568.
3. Lambris JD. Cruse JM Lewis RE Jr (eds): Complement Today. Complement Profiles. Basel, Karger, 1993; Vol1: 16-45.
4. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
5. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1966; 14: 401-406.
6. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACIÓN

MO-165042

R1: 1 x 40 mL

R2: 1 x 10 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad



Complement C3 MonlabTest®



Turbidimetry

Quantitative determination of complement C3 (C3)

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 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	Ref. MO-165044 Multicalibrator Protein

CALIBRATION

The assay is calibrated to the Reference Material ERM-DA470k/IFCC. It must be used the Multicalibrator Protein MonlabTest 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 Multicalibrator Protein MonlabTest 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 thermostable 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.

MONLAB has instruction sheets for several automatic analyzers.

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. MONLAB provide Multicontrol Protein MonlabTest (MO-165045). 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 400 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 depend 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:** Δ8.86 mA. mg/dL (23.8 mg/dL), Δ4.3 mA. mg/dL (190 mg/dL).
- Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in an 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) was 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)² 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 (20 g/L), bilirubin (40 mg/dL) and rheumatoid factors (600 IU/mL), do not interfere. Lipemia (5 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.
- 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. AACCPres, 1997
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCPres, 1997.

PACKAGING

MO-165042

R1: 1 x 40 mL
R2: 1 x 10 mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by

