КОМПЛЕМЕНТ C3 (complement C3) 1102094

Турбидиметрический метод для количественного определения комплемента C3.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1102094 R1 буфер 1x40 мл, R2 антитела 1x10 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест на C3 – это количественный иммунотурбидиметрический тест для определения комплемента C3 в сыворотке или плазме человека. Антитела к C3 при добавлении к пробам, содержащим C3, образуют нерастворимые комплексы. Эти комплексы вызывают изменение абсорбции пропорционально концентрации C3 в пробе пациента. Расчет производится с помощью построения многоточечной калибровочной кривой по нескольким калибраторам.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ[1]

C3 – это функциональная связь между классическим и альтернативным путями активации, и он имеет самую высокую концентрацию среди всех компонентов системы комплемента в плазме человека. C3 синтезируется клетками печени, также бактериальные эндотоксины индуцируют синтез в моноцитах и фибробластах. Комплемент C3 – это β-2-протеин, который, расщепляясь под действием C3-конвертазы, дает фармакологически активный фрагмент C3a и крупный фрагмент C3b. По мере старения C3 в сыворотке быстро ферментативно разрушается до неактивного C3c и других небольших фрагментов. Концентрация C3 повышается вследствие острофазовогго ответа (травма, хирургическое вмешательство или воспалительный процесс), билиарной обструкции и очагового гломерулосклероза. Снижение уровней C3 является следствием наследственного дефицита, который может повышать риск инфекций в частности инкапсулированными бактериями, а также приобретенного дефицита, вызванного заболеваниями сосудов и тяжелыми инфекциями.

РЕАГЕНТЫ

R1 дилюент	ТРИС-буфер 20ммоль/л, ПЭГ 8000, pH 8,2. Азид натрия 0,95 г/л.
R2 антитела	Козья сыворотка, Антитела к человеческому C3, pH 7.5. Азид натрия 0,95 г/л.
Дополнительно: не входит в набор	Калибратор протеинов (PROT CAL), кат.№ 1102003.

КАЛИБРОВКА

Тест был стандартизован по Референсному Материалу CRM 470/RPPHS (Институт Референсных Материалов и Измерений, IRMM). Для калибровки рекомендуется использовать Калибратор протеинов (PROT CAL), кат.№ 1102003.

ПОДГОТОВКА

Реагенты: готовы к использованию.

Калибровочная кривая: Подготовьте следующие разведения калибратора протеинов в физрастворе (NaCl 9г/л). Умножьте концентрацию C3 в калибраторе на соответствующий коэффициент, приведенный в таблице, для получения концентрации C3 каждого разведения.

Стандарты	1	2	3	4	5	6
Калибратор (мкл)	–	10	25	50	75	100
NaCl 9г/л (мкл)	100 мкл	90 мкл	75 мкл	50 мкл	25 мкл	–
Концентрация	0	0,1xC	0,25xC	0,5xC	0,75xC	1,0xC

Концентрация калибратора указана в инструкции к калибратору протеинов (**C**).

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора табильны вплоть до указанной на этикетке даты (Expiration Date) при хранении в плотно закрытом флаконе при 2-8°C с предотвращением контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов: присутствие частиц или мутности.

Не замораживайте, замороженные антитела или дилюент могут изменять функциональную активность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Термостат с 37°C.
- Спектрофотометр или термостатируемый анализатор (37°C) с фильтром 340нм (320–360нм).

ПРОБЫ

Свежая сыворотка или плазма. В качестве антикоагулянта должны быть использованы ЭДА и гепарин. Стабильность 7 дней при 2-8°C или 3 месяца при –20°C. Пробы с фибрином должны быть центрифугированы. Не используйте гемолизированные или липемические пробы.

ПРОЦЕДУРА

1. Доведите реагенты и анализатор (держатель кюветы) до 37°C.
2. Условия теста:

   Длина волны: 340 нм (320–360нм).
   Температура: 37°C.
   Оптический путь: 1см
   Метод: кинетика по фиксир. времени по многоточечной калибровке, время задержки 3с, время реакции – 120с.

3. Установите прибор на ноль по дистиллированной воде.
4. Отдозируйте в кюветы:

	Метод	Микрометод	ChemWell
Реагент R1 (мкл)	400 мкл	200 мкл	160 мкл
Калибраторы (мкл)	10 мкл	5 мкл	4 мкл
Проба (мкл)	10 мкл	5 мкл	4 мкл

5. Перемешайте, измерьте абсорбцию (A1) при 340 нм после добавления пробы.
6. Затем немедленно пипетируйте в кюветы:

Реагент R2 (мкл)	100 мкл	50 мкл	40 мкл

7. Перемешайте и *точно* через 2 минуты после добавления R2 измерьте абсорбцию (A2).

Реагенты могут быть использованы с различными автоматическими биохимическими анализаторами или в ручных процедурах на фотометрах с подходящей длиной волны. **У Spinreact есть адаптации к различным автоматическим анализаторам, которые доступны по запросу**.

РАСЧЕТЫ

Рассчитайте изменение абсорбции (ΔA=A1–A2) для каждой точки калибровочной кривой (каждого стандарта) и постройте калибровочную кривую зависимости концентрации каждого стандарта от его изменения абсорбции. Концентрация C3 в пробе рассчитывается интерполяцией ее ΔA к калибровочной кривой.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля характеристик ручных и автоматических процедур рекомендуется использовать контрольную сыворотку Spinreact PROT CONTROL (кат.№: 1102004). Каждая лаборатория должна представить свою собственную схему контроля качества и действия по исправлению, если контроли вне приемлемых диапазонов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[2]

Новорожденные: **70 – 196 мг/дл**
Взрослые: **90 – 180 мг/дл**

Каждая лаборатория должна представить свой референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. ***Линейность***: до 600 мг/дл (Примечание 1), при описанных выше условиях. Пробы с большими концентрациями должны быть разведены 1/5 физраствором (NaCl 9г/л) и тестированы повторно, результат умножить на 5. Предел линейности зависит от соотношения проба/реагент. Он будет повышаться при снижения объема сыворотки, при этом также будет пропорционально снижаться чувствительность.
2. ***Определяемый уровень***: Значения ниже 1 мг/дл дают невоспроизводимые результаты.
3. ***Эффект прозоны***: Не наблюдается эффекта прозоны до 1500 мг/дл.
4. ***Чувствительность***: Δ 8,66 мА / мг/дл (28.8 мг/дл); Δ 84,3 мА / мг/дл (190 мг/дл).
5. ***Воспроизводимость***:

	Внутри серии тестов (n=10)		
Среднее (мг/дл)			
SD			
CV %			

Между сериями тестов (n=10)		

6. ***Правильность***: результаты, полученные с помощью этого теста (y) при сравнении с другими, полученными с использованием коммерческих реагентов (x) с похожими характеристиками, не давали систематических различий.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференции с гемоглобином (до 19 г/л), билирубином (до 40 мг/дл) и ревматоидными факторами (до 600 МЕ/мл). Липемия (>10 г/л) дает интерференцию. Другие вещества также могут влиять[6,7].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Линейность зависит от концентрации калибратора.
2. Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одиночного теста; он должен быть основан на совокупности клинических и других лабораторных данных.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Phipladelphia, 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, 3tn ed. AACC Pres, 1997.