



TURB C3 - Complemento C3 C3

Finalidade:

Reagente utilizado na determinação quantitativa de Complemento C3 no soro ou plasma humanos por imunoturbidimetria. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

A turbidimetria baseia-se na detecção ótica de partículas muito pequenas suspensas em líquido. Quando o anticorpo específico para Complemento C3 reage com o C3 presente na amostra (antígeno) formam-se os imunocomplexos insolúveis que induzem uma turbidez, medida por espectrofotometria a 340 nm. Essa turbidez é diretamente proporcional à concentração do complemento C3 na amostra.

Metodologia:

Imunoturbidimetria

Significado Clínico:

O sistema complemento é um grupo de 20 proteínas distintas imunologicamente presentes no sangue e tecidos. Elas podem interagir com complexos de antígeno-anticorpo, entre si e com as membranas da célula, de um modo complexo pretendendo destruir vírus e bactérias. Elas são sintetizadas no fígado e estão presentes no soro como moléculas funcionalmente inativas, mas são ativadas através do complexo de antígeno-anticorpo. O Complemento C3 é uma α -glicoproteína de 2 subunidades. É um reagente de fase aguda cujos níveis são aumentados durante a fase aguda. Baixos níveis são encontrados em doenças complexas imunes e em deficiências herdadas que resultam em infecções periódicas.

Reagentes:

Reagente 1- Diluente: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Tampão Imidazole pH 7, PEG, cloreto de sódio, azida de sódica (<1g/l)

Reagente 2 - Anticorpo: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Anticorpo Complemento C3 anti-humano (título \pm 3 mg/ml) em pH 7.4 Tampão de HEPES, estabilizadores e azida sódica (<1g/l)

Os reagentes estão prontos para uso e quando não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para uso diagnóstico "in vitro".

Os produtos de origem humana foram testados e estão livres de HBsAg e anticorpos para HCV e HIV, porém este material deve ser tratado cuidadosamente como potencialmente infeccioso. Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante. Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se o reagente apresentar turbidez, presença de precipitado e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C.
2. Espectrofotômetro ou fotômetro capaz de medir absorvância em 340nm.
3. Pipetas de vidro e/ou automáticas.
4. Calibrador e controles Ebram.
5. Medidor de tempo.
6. Tubo de ensaio

Amostra:

É recomendado soro livre de hemólise e plasma EDTA. O C3 é estável no soro por 48 horas se for refrigerado entre 2 - 8°C. Para período mais prolongado, congelar a amostra (-20°C) por no máximo 3 meses (congelar somente uma vez). Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

Não é necessário jejum. Contudo, poderá ser modificado seguindo

orientação médica

Interferências:

Triglicérides até 2500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, hemoglobina

até 1000 mg/L, heparina até 50mg/dL, citrato de sódio até 1000 mg/dL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do Complemento C3, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 340 nm.
Tipo de Reação: Ponto final
Direção: Crescente
Pré-diluição da amostra: 1:5
Vol. Amostra diluída: 20 μ L
Vol. do Diluente : 250 μ L
Vol. do Anticorpo: 50 μ L
Tempo de Incubação: 10min

Calibração:

Utilizar o calibrador Turbocalib - Calibrador Turbidimétrico Ebram - Cód. 1042. A concentração do Complemento C3 no calibrador é rastreável ao material de referência CRM470 (Preparação de referência para proteínas séricas humanas, certificada em conjunto pelo Colégio Americano de Patologistas, Communal office of Reference e Federação Internacional de Química Clínica (IFCC)

Procedimento Automatizado:

Vide manual para utilização do equipamento, protocolo específico e instruções de uso do reagente.

Para analisadores onde não seja possível o preparo automático da curva de calibração, deve-se seguir orientação do preparo dos pontos de calibração descrito, em Preparo da Curva de Calibração para Analisadores Automáticos, no verso dessa instrução de uso.

Procedimento Manual:

Pré-diluir as amostras e os controles, em fisiológica, na razão 1:5 (100 μ l de amostra + 400 μ l de solução fisiológica).

PREPARO DOS PONTOS DE CALIBRAÇÃO

Identificar 6 tubos de ensaios (1 a 6).
Adicionar ao tubo 1, 400 μ l de solução fisiológica + 100 μ l de calibrador. Homogeneizar.

Adicionar aos tubos 2 a 6, 250 μ l de solução fisiológica.
Transferir 250 μ l do conteúdo do tubo 1 para o tubo 2. Homogeneizar.
Transferir 250 μ l do conteúdo do tubo 2 para o tubo 3. Homogeneizar.
Transferir 250 μ l do conteúdo do tubo 3 para o tubo 4. Homogeneizar.
Transferir 250 μ l do conteúdo do tubo 4 para o tubo 5. Homogeneizar.

	Tubo1	Tubo2	Tubo3	Tubo4	Tubo5	Tubo6
Fator de diluição	1.0	0.5	0.25	0.125	0.063	0

Obs: a concentração de cada ponto é obtida multiplicando-se a concentração do calibrador pelo fator de diluição

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Separar tubos de ensaio para cada ponto de calibração, branco, amostra / soro controle e realizar os procedimentos conforme tabela abaixo:

	Branco	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	20 μ L	-	-
Pontos de Calibração	-	20 μ L	-
Amostra/S.C. dil 1:5	-	-	20 μ L
Reagente R1	250 μ L	250 μ L	250 μ L
Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A1) à 340 nm zerando o aparelho com água destilada.			
Reagente R2	50 μ L	50 μ L	50 μ L
Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A2) à 340 nm zerando o aparelho com água destilada.			

Cálculos:

Abs.= Absorbância
1.A Abs final dos pontos de calibração =
(A2 - A1) dos pontos de calibração - (A2 - A1) branco do reagente

2. Confecção da Curva de calibração
-Em um papel milimetrado plotar as absorbâncias finais, dos pontos de calibração no eixo das ordenadas. (eixo y)
-Plotar as concentrações de cada ponto de calibração, na ordem crescente, no eixo das abscissas. (eixo x)

3.A Abs final de amostra =
(A2 - A1) amostra - (A2 - A1) branco do reagente
-Interpolar as absorbâncias finais de cada amostra / soro controle, na curva de calibração para determinar a respectiva concentração.

Exemplo:

1.Abs.Final do ponto de calib. = (A2 - A1)calib - (A2 - A1)branco
Abs.Final do ponto de calib. = (0,625 - 0,059) - (0,090 - 0,030)
Abs.Final do ponto de calib. = 0,506
obs: realizar esse cálculo para todos os pontos da curva de calibração.

2.Abs.Final de amostra = (A2 - A1) amostra - (A2 - A1)branco
Abs.Final de amostra = (0,522 - 0,041) - (0,070 - 0,020)
Abs.Final de amostra = 0,431

Utilizar a curva de calibração no papel milimetrado para obter as concentrações das amostras.

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 950mg/dL. Valores superiores, diluir a amostra com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado pela fator de diluição. A linearidade pode variar consideravelmente dependendo

do instrumento utilizado. O limite da linearidade depende da relação de amostra/reagente. Aumenta reduzindo o volume da amostra, enquanto que a sensibilidade do ensaio diminuirá proporcionalmente.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição seguindo as Boas Práticas de Laboratório Clínico. Aconselhamos o uso do Turbcontrol - Controle Turbidimétrico Ebram - cód.1043.

Valores Esperados:

Adultos: 83 - 177 mg/dL
Crianças de 1 mês a 12meses: 53 - 180 mg/dL
Recém nascidos: 58 - 120 mg/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

A comparação com Nefelometria nos proporcionou os seguintes resultados: y = 0.9978x - 2.4553; r = 0.9965

Precisão:

* Intra - Precisão analisada
3 amostras de soro foram consecutivamente dosadas 20 vezes no Cobas Mira.

Valores Esperados	n	Média	S.D.	C.V.
Baixo	20	50.3	1.42	2.82
Médio	20	134.3	4.63	3.43
Alto	20	286.2	9.39	3.28

* Inter-Precisão de exame

2 soros controle foram dosados diariamente no Cobas Mira depois da calibração.

Valores Esperados	n	Média	S.D.	C.V.
Baixo	65	85.6	2.19	2.56
Médio	65	47.1	1.26	2.68

Exatidão:

Controle	Valores analisados	Valores das Medidas (mg/dl)
Ebram	189 (160 - 217)	188
Liquicheck 1	78 (62 - 93)	84.8
Liquicheck 2	206 (165 - 247)	216.1
Seronorm L	64 (51 - 77)	66.9
Seronorm N	162 (130 - 192)	156
Seronorm H	141 (113 - 169)	139.7

Sensibilidade Metodológica:

0,4 mg/dL

Especificidade:

Nos estudos comparativos realizados apresentamos dados determinados em um analisador. A comparação com soros controles já validados mostrou uma especificidade analítica adequada.

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade \geq 1 mega ohm ou condutividade \leq 10 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade \geq 0,1 megaohms ou condutividade \leq 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Automação: R1= 1 x 25mL + R2= 1 x 3mL - Cód.1034
Linha Hitch-Line: R1= 1 x 90mL + R2= 1 x 12mL - Cód.10034

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com.

Referência Bibliográfica:

- 1.Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, (1994).
- 3.Roitt, I., Essential Immunology, Blackwell, Oxford, (1991).
- 4.Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)
- 5.Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Testes, Third Edition, AACCPress 1990.
- 6.Watchel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals, Laboratory Medicine, 1996; 26:593-7.
7. Arquivos da Ebram.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	D-R-S-SR1
Calibration Mode:	STD NONLINEAR (ou LOGIT/LOG 4)
Reagent Blank:	READ/DIL
Cleaner:	NO
Wavelength:	340 nm
Decimal Position:	2
Unit:	mg/dl
ANALYSIS	
Dilution Name:	NaCl (**)
Factor:	10.00
Time:	NO
Post Dil Factor:	2.00
Sample:	Cycle: 1
Volume:	8.0 uL
Reagent:	Dil: 0.0 uL
Volume:	Cycle: 1
Start Reagent 1:	150 uL
Volume:	Cycle: 12
Start Reagent 2:	30.0 uL
Volume:	Dil: 0.0 uL
Volume:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 1
CALCULATION	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	ON
High:	ON
Norm Range Low:	NO
High:	NO
Number of Steps:	1
Calculation Step A:	ENDPOINT
Readings First:	11
Last:	24
Reaction Limit:	
Point:	
Calib. Interval:	
CALIBRATION	ON REQUEST
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	NO
Blank Range Low:	NO
High:	NO
High:	NO
Factor:	
Calibrator Pos:	(**)
STD1:	(*)
STD2:	(*) / 2
STD3:	(*) / 4
STD4:	(*) / 8
STD5:	(*) / 16
STD6:	0.0
STD7:	NO
STD8:	NO
Calc. Model:	LOGIT/LOG 4
Correction STD:	
Replicate:	SINGLE
Deviation:	NO
CONTROL	
CS1 - NO	
CS2 - NO	
CS3 - NO	

(*) colocar a concentração do calibrador

(**) colocar a posição do calibrador (TurbCallib) na rack Cal/CS (a curva de calibração será realizada automaticamente pelo analisador)

(***) O NaCl (Dilution Name) deverá ser cadastrado em PROG 6 (System parameters) na opção 2 (Diluent Name).

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name:	C3	Test:	C3	
Test Bar Code:	C3			
Test Type:	ENDPOINT	Curve Type:	2-log5	
Units:	mg/dl	Nº of Decimal Places:	2	
Primary Wavelength:	340 nm	Secondary Wavelength:		
Read Time Interval:	20	Sample Blank:	Yes	
Factor:	1.0000			
Calibration Interval:	999			
Normalization Interval:	999			
Nº of Calibrators:	6	Nº of Replicates:	1	
Low Blank A Limit:	-0.100	High Blank A Limit:	1.000	
Low A Limit:	-0.1000	High A Limit:	2.000	
Low Normal:	83	High Normal:	177	
Linearity Limit:		Curve S.D. Limit:	10.000	
Test Name:	C3	Test:	C3	
Test Bar Code:	C3			
Sample Volume:	8 uL	Sample Diluent:	salina	
Reagent Dilution Ratio:	2	Predilution Ratio:	10	
Reagent Dilution:	salina			
	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 1	250	C31		240 sec
Reagent 2	30	C32	20 uL	300 sec
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

Ebram Prods.Laboratoriais Ltda@.

Rua Júlio de Castilhos, nº 500

Belenzinho - São Paulo - SP

Cep: 03059-000

Tel.: (11) 2291-2811

Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

www.ebram.com

sac@ebram.com

SAC.: (11) 2291-2811

Resp.Téc.: Nadjara Novaes CRF- 37.451

Nº do Reg. MS: 10159820072

Edição: Julho/2008

APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA PLUS

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	D-R-S-SR1
Calibration Mode:	LOGIT / LOG4
Reagent Blank:	READ/DIL
Cleaner:	NO
Wavelength:	340 nm
Decimal Position:	2
Unit:	mg/dl
ANALYSIS	
Dilution Name:	NaCl
Factor:	10.00
Time:	NO
Sample Dil. Name:	NaCl
Post Dil Factor:	2.00
Conc. Factor:	NO
Pos:	(**)
STD1:	10.00
STD2:	2.00
STD3:	2.00
STD4:	2.00
STD5:	2.00
STD6:	0.00
STD7:	NO
STD8:	NO
Sample:	Cycle: 1
Volume:	8.0 uL
Dil:	0.0 uL
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	150 uL
Start Reagent 1:	Cycle: 12
Volume:	Dil: 0.0 uL
Start Reagent 2:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 1
CALCULATION	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	ON
High:	ON
Norm Range Low:	NO
High:	NO
Number of Steps:	1
Calculation Step A:	ENDPOINT
Readings First:	11
Last:	24
Reaction Limit:	
Point:	
Calib. Interval:	
CALIBRATION	ON REQUEST
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	NO
Blank Range Low:	NO
High:	NO
High:	NO
Factor:	
Calibrator Pos:	(**)
STD1:	(**)
STD2:	(**)
STD3:	(**)
STD4:	(**)
STD5:	(**)
STD6:	(**)
STD7:	(**)
STD8:	(**)
Calc. Model:	
Correction STD:	
Replicate:	SINGLE
Deviation:	NO
CONTROL	
CS1 - NO	
CS2 - NO	
CS3 - NO	

(*) colocar o valor do calibrador

(**) colocar a posição do calibrador (TurbCallib) na rack Cal/CS (a curva de calibração será realizada automaticamente pelo analisador)

(***) inserido automaticamente pelo equipamento Cobas Mira Plus

Obs: O NaCl (Dilution Name) deverá ser cadastrado em PROG 6 (System parameters) na opção 2 (Diluent Name).

PREPARO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Preparar 6 tubos e identificá-los de 1 a 6.

Adicionar ao tubo 1 a 5, 500 uL de Solução Fisiológica e ao tubo 6, 900 uL de Solução Fisiológica. Acrescentar ao tubo 6, 100 uL de calibrador TURBCALIB. Homogenizar.

Transferir 500 uL do conteúdo do tubo 6 para o tubo 5. Homogenizar.

Transferir 500 uL do conteúdo do tubo 5 para o tubo 4. Homogenizar.

Transferir 500 uL do conteúdo do tubo 4 para o tubo 3. Homogenizar.

Transferir 500 uL do conteúdo do tubo 3 para o tubo 2. Homogenizar.

Posição 1 2 3 4 5 6

Diluição 1:160 1:80 1:40 1:20 1:10

Fator 0 0,0625 0,125 0,25 0,5 1,0

Obs: a concentração de cada tubo é determinada pela concentração do calibrador multiplicado pelo fator.

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	C3
Abbr Name:	C3
Mode:	ENDPOINT
Wavelength:	340 nm
Units:	mg/dL
Decimals:	2
Low Conc:	0.0 mg/dL
High Conc:	(*)
Calibrator Name:	TurbCallib
Repeat:	1
Number:	6
Concentration:	
Interval:	30 dias
Cut Off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	83 mg/dL
Ref Male High:	177 mg/dL
Ref Female Low:	83 mg/dL
Ref Female High:	177 mg/dL
Ref Pad Low:	63 mg/dL
Ref Pad High:	180 mg/dL
Control 1:	None
Control 2:	None
Control 3:	None
Correlat Factor:	a = 1.0900
Correlat Offset:	b = 0.000 mg/dL
DUAL MODE	
Name:	C3
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	250 uL
Re-run Volume:	250 uL
SAMPLE	
Normal Volume:	8 uL
Re-run Volume:	8 uL
R2 Bottle:	5 ml
Normal Volume:	30 uL
Re-run Volume:	30 uL
Predilution:	1:10 DIL
Slope Blank:	NO
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Point One Two:	
Incubation Time:	6.5
Low Absorbance:	-0.100 Abs
High Absorbance:	3.000 Abs
R ABS L Limit:	-0.100 Abs
R ABS H Limit:	3.000 Abs
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	Yes (0.000)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	

MONO MODE

Name:	
Sample Blank:	
R1 Bottle:	
Normal Volume:	
Re-run Volume:	
SAMPLE	
Normal Volume:	
Re-run Volume:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	
Point One Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	
High Absorbance:	
R ABS L Limit:	
R ABS H Limit:	
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	
(*) concentração do calibrador (TurbCallib)	
(**)	
(***)	
(Ø)	

Antes da curva de calibração deve-se realizar um branco do reagente

Disponos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.