

### Order information:

| Catalog No.                     | Contents                   |
|---------------------------------|----------------------------|
| H3701 Hit I / 917 (AU* / ILab*) | R1 2 x 18 ml   R2 2 x 4 ml |

(\* ) Kit contains only reagent barcodes for Hitachi systems.

### System information:

Hitachi 911/917: ACN 036  
For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

### Intended use:

Immunoturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of human C3c in human serum and plasma.

### Summary:

Activation of the complement system takes place via a classical and an alternative route. The two pathways come together in a joint terminal branch. As complement factor C3c is a factor common to both pathways, the C3c concentration can be evaluated as a parameter for activation of the complement system. Activation is indicated by lowered values. Additional differentiation can be made by determining C4. If the C4 level is normal, activation of the alternative route is likely. Depressed values are observed in a number of inflammatory and infectious diseases. Primary causes are systemic lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis, subacute bacterial endocarditis, viremia, parasitic infections or bacterial sepsis. A considerable decrease in C3c can be found in patients with partial liposystrophy or membranoproliferative glomerulonephritis when the C3c-nephritis factor is present. C3c measurements are used in the diagnosis and treatment of various inflammatory disorders including glomerulonephritis, rheumatoid arthritis and bacterial infections. As an acute phase protein, C3c is produced to an increased extent during inflammatory processes. It is elevated in systemic infections, non-infectious chronic inflammatory conditions (primarily chronic polyarthritis) and physiological states (pregnancy). The elevation rarely exceeds twice the normal value and can mask a reduction in the current consumption.

A variety of methods, such as nephelometry, radial immunodiffusion and turbidimetry are available for the determination of complement factor C3c.

### Test principle:

Immunoturbidimetric assay  
• Sample and addition of R1 (buffer)  
• Addition of R2 (anti-C3c antibody/buffer) and start of reaction

Anti-C3c antibodies react with antigen in the sample to form an antigen/antibody complexes which, following agglutination, are measured turbidimetrically.

### Reagent concentration:

|                                   |                     |
|-----------------------------------|---------------------|
| <b>R1:</b>                        |                     |
| TRIS* buffer pH 7.8               | 100 mmol/l          |
| Polyethylene glycol               | 4.5%                |
| NaCl                              | 150 mmol/l          |
| Preservative                      |                     |
| <b>R2:</b>                        |                     |
| Anti-human C3c antibody (rabbit), | dependent on titer; |
| TRIS* buffer pH 7.8               | 80 mmol/l           |
| NaCl                              | 150 mmol/l          |
| Preservative                      |                     |

\*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

### Preparation and stability:

R1: Ready for use.  
R2: Ready for use.  
Unopened kit components: Up to the expiration date at +2 to +8°C  
Onboard stability at +2 to +8°C: R1 84 days  
R2 84 days

### Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes  
Na-heparin-, Li-heparin plasma or EDTA-Plasma  
Stability: at +20°C - +25°C 4 days  
at +4°C - +8°C 8 days

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

C3 is converted into two fragments C3c and C3dg, which are functionally inactive and cross react with the antibody uses in the test. C3 should be determined in EDTA-plasma and C3c in serum. To ensure that all of the C3c present has been converted to C3c, the determination should be performed only after 24-48 h or after incubation for 1 h at +37°C.

### Notes:

For in vitro diagnostic use.  
The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.  
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

### Limitation interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.  
Icterus: No significant interference up to a bilirubin concentration of 80 mg/dl.  
Hemolysis: No significant interference up to a haemoglobin concentration of 1100 mg/dl.  
Lipemia (Intralipid): Elevated levels of triglycerides may interfere. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.  
Rheumatoid factors up to 1200 IU/ml do not interfere.  
No high-dose hook-effect is seen up to a C3c concentration of 500 mg/dl.  
Monoclonal gammopathy sera of the IgA or IgM type can interfere with the C3 determination.  
The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

### Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

#### Materials provided

• Working solutions as described above

#### Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below  
• 0,9% NaCl solution

| <b>Manual procedure:</b>  |               |                   |
|---|---------------|-------------------|
| Wavelength:   | 340 nm        |                   |
| Temperature:  | +37°C         |                   |
| Cuvette:  | 1 cm          |                   |
| Zero adjustment:  | against blank |                   |
| Sample/Calibrator   | Blank         | Sample/Calibrator |
| R1  | ---           | 9 µl              |
|   | 750 µl        | 750 µl            |
| Mix, incubate 5 min. and read A <sub>1</sub> . Then add:  |               |                   |
| R2  | 150 µl        | 150 µl            |
| Mix, incubate 5 min. and read A <sub>2</sub> .  |               |                   |
| <b>Calculation:</b>   |               |                   |
| $\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ sample or calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ blank}]$   |               |                   |
| The concentration of C3c in patient sera has to be calculated from $\Delta A$ using mathematic function as logit/log or can be read from a graph using values of 6 levels of standards in the concentration range of 0 to 300 mg/dl C3c. For zero value is recommended to use saline solution (0.9%). |               |                   |

### Measuring/reportable range:

4 - 300 mg/dl (0.04 - 3.0 g/l)\*  
At higher concentrations, dilute the sample with 0.9% NaCl (e.g. 1+1). Multiply the result by the appropriate factor (e.g. 2).  
\*Maximum reportable range is dependent on the highest standard concentration.

### Expected values:

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

\*\* Reference values according to CRM 470 Protein Standardization

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patients' population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the C3c results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

### Imprecision:

Reproducibility within run was determined using controls (n = 20). The following results were obtained:

| Sample   | Within run |          |      |
|----------|------------|----------|------|
|          | Mean mg/dl | SD mg/dl | CV % |
| Sample 1 | 75.9       | 1.03     | 1.35 |
| Sample 2 | 101.0      | 0.82     | 0.81 |
| Sample 3 | 152.3      | 1.98     | 1.30 |

Reproducibility between day was determined using controls (n = 20). The following results were obtained:

| Sample        | Between day |          |      |
|---------------|-------------|----------|------|
|               | Mean mg/dl  | SD mg/dl | CV % |
| Human serum 1 | 81.8        | 1.84     | 2.25 |
| Human serum 2 | 162.5       | 3.78     | 2.33 |
| Human serum 3 | 244.6       | 5.79     | 2.37 |

### **Analytical sensitivity (lower detection limit)**

Detection limit: 4 mg/dl (0.04 g/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable C 3c concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as the concentration lying three standard deviations above that of the lowest standard (zero standard + 3 SD, within run precision, n = 21).

### **Method comparison:**

A comparison of the Analyticon Turbitex<sup>®</sup> C3c (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 40 samples the following result.

$$y = 1.00 x + 2.75; \quad r = 0.997$$

### **Quality control:**

|                         |          |       |
|-------------------------|----------|-------|
| Protein Control Level 1 | 3 x 1 ml | #7661 |
| Protein Control Level 2 | 3 x 1 ml | #7662 |

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

### **Calibration:**

Standardization: The C3c method was calibrated against the Reference Preparation CRM 470. (RPPHS - Reference Preparation for Proteins in Human serum)

#### **• Roche/Hitachi 911/917**

|                               |          |       |
|-------------------------------|----------|-------|
| S1: NaCl (0.9%)               |          |       |
| S2-S6: Bio Cal <sup>®</sup> P | 3 x 1 ml | #1470 |

Multiply the lot specific calibrator value by the factors below to determine the standard concentrations for the six-point calibration curve:

|           |           |
|-----------|-----------|
| S2: 0,143 | S5: 1,000 |
| S3: 0,286 | S6: 1,333 |
| S4: 0,350 |           |

### **Calibration frequency:**

Full recalibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

### **Disposal:**

Please note the legal regulations.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

### **Literature:**

1. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
2. Consensus values of the Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, the Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie and the Verband der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
3. Greiling H, Gressner AM Ed. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995: 1159-62
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preatalytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
5. Müller-Eberhard HJ. Complement: Chemistry and pathways. In: Inflammation: Basic principles and clinical correlates. Gallin I, Goldstein IM, Snyderman R e.g New York: Raven Press, 1988:21-53
6. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
7. Thomas L (Hrsg.) Labor und Diagnose, 5<sup>th</sup> Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH 1998:812-823
8. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup> Philadelphia Pa.: WB Saunders, 1995: 164-165



### Bestellinformation:

| Katalog-Nr.                      | Inhalt                     |
|----------------------------------|----------------------------|
| H3701 Hit 1 / 917 (AU* / I Lab*) | R1 2 x 18 ml   R2 2 x 4 ml |

(\* ) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

### Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 036  
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

### Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von Human-C3c in Humanserum und -plasma.

### Zusammenfassung:

Die Aktivierung des Komplementsystems erfolgt auf einem klassischen und auf einem alternativen Weg. Beide münden in eine gemeinsame terminale Endstrecke. Da der Komplementfaktor C3c ein gemeinsamer Faktor beider Wege ist, lässt sich die C3c-Konzentration als Messgröße einer Aktivierung des Komplementsystems einsetzen. Eine Aktivierung führt zu erniedrigten Werten. Eine zusätzliche Differenzierung kann durch die Bestimmung von C4 erfolgen. Ist C4 normal, liegt mit einiger Wahrscheinlichkeit eine Aktivierung des alternativen Weges vor. Erniedrigte Werte werden bei einer Vielzahl von entzündlichen und infektiösen Erkrankungen beobachtet. Primäre Ursachen sind Systemischer Lupus Erythematoses (SLE), rheumatoide Arthritis, subakute bakterielle Endocarditis, Virämie, Infektionen mit Parasiten oder bakterielle Sepsis. Ein starker Abfall von C3c ist bei Patienten mit partieller Lipodystrophie oder membranproliferativer Glomerulonephritis feststellbar, wenn die Patienten den C3c-Nephritis-faktor aufweisen. C3c Bestimmungen dienen zur Diagnose und Behandlung verschiedener entzündlicher Erkrankungen wie z. B. Glomerulonephritis, rheumatische Arthritis und bakterielle Infektionen. Als Akutphasenprotein wird C3c während der Entzündung vermehrt gebildet. Es ist erhöht bei systemischen Infektionskrankheiten, nicht-infektiösen chronischen Entzündungszuständen (primär chronischer Polyarthritis) und physiologischen Zustände (Schwangerschaft). Die Erhöhung überschreitet selten den zweifachen Wert und kann eine Verringerung im Spiegel hinsichtlich des laufenden Verbrauchs maskieren.

Zur Bestimmung des Komplementfaktors C3c stehen verschiedene Methoden wie die Nephelometrie, die radiale Immundiffusion und die Turbidimetrie zur Verfügung.

### Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest  
• Probe und Zugabe von R1 (Puffer)  
• Zugabe von R2 (Anti-C3c Antikörper/Puffer) und Start der Reaktion

Anti-C3c Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird.

### Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

**R1:**  
TRIS\* Puffer pH 7,8 100 mmol/l  
PEG 4,5 %  
NaCl 150 mmol/l  
Konservierungsmittel

**R2:**  
Anti-Human C 3c-Antikörper (Kaninchen); abhängig vom Titer;  
TRIS\* Puffer pH 7,8 80 mmol/l  
NaCl 150 mmol/l  
Konservierungsmittel

\*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

### Lagerung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig  
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig  
Bei +2°C bis +8°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.  
Onboard Stabilität bei +2 bis +8°C: R1: 84 Tage  
R2: 84 Tage

### Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen  
Na-Heparin-, Li-Heparin-, oder EDTA-Plasma

Haltbarkeit: bei +20°C bis +25°C 4 Tage  
bei +4°C bis +8°C 8 Tage

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

C3 wird in die funktionell inaktiven Fragmente C3c und C3dg überführt, die mit dem im immunologischen Test verwendeten Antikörper kreuzreagieren können. Die Bestimmung von C3 sollte im EDTA-Plasma erfolgen, die Bestimmung von C3c im Serum, aber erst nach 24 bis 48 h oder nach 1 h Inkubation bei +37°C, da dann alles C3 in C3c transformiert ist.

### Hinweis:

In vitro Diagnostikum.  
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.  
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

### Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung  $\pm 10\%$  vom Ausgangswert.  
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Bilirubin-Konzentration von 80 mg/dl Bilirubin.  
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von 1100 mg/dl.  
Lipämie: Erhöhte Triglycerid-Konzentrationen können die Messwerte beeinflussen. Es besteht keine zufrieden stellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.  
Keine wesentliche Beeinflussung durch Rheumafaktoren bis zu einer Konzentration von 1200 IU/ml.  
Es wurde kein High-Dose-Hook-Effekt bis zu einer C3c Konzentration von 500 mg/dl beobachtet.  
Monoklonale Gammopathie-Seren vom Typ IgA bzw. IgM können die C3c-Bestimmung stören.  
Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

### Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

#### Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben
- zusätzlich benötigte Materialien
- Kalibrations- und Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben
- NaCl-Lösung (0,9%)

| Manuelle Testdurchführung:  |                                |                  |
|---|--------------------------------|------------------|
| Wellenlänge:  | 340 nm                         |                  |
| Reaktionstemperatur:  | +37 °C                         |                  |
| Schichtdicke:   | 1 cm                           |                  |
| Messung:  | gegen Reagenzienleerwert (RLW) |                  |
| Probe/Kalibrator  | RLW                            | Probe/Kalibrator |
| R1  | 750 µl                         | 750 µl           |
| Mischen, 5 Min. inkubieren und E <sub>1</sub> ablesen. Dann zufügen:  |                                |                  |
| R2  | 150 µl                         | 150 µl           |
| Mischen, 5 Min. inkubieren und E <sub>2</sub> ablesen.  |                                |                  |
| Berechnung:   |                                |                  |
| $\Delta E = [(E_2 - E_1) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_2 - E_1) \text{ RLW}]$  |                                |                  |
| Die Konzentration von C3c in Patientenserum sollte aus dem $\Delta E$ der Probe mit Hilfe eines mathematischen Modells wie logit/log berechnet oder aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Messergebnissen von 5 Standards für einen Kalibrationsbereich von 0 bis 300 mg/dl C3c. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen. |                                |                  |

### Messbereich:

4 - 300 mg/dl bzw. 0,04 - 3,0 g/l\*  
Bei höheren Konzentrationen werden die Proben manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt (z.B. 1+1). Das Ergebnis ist mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor zu multiplizieren (z.B. Faktor 2).

\*Abhängig von der höchsten angegebenen Standardkonzentration.

### Referenzbereich:

90 - 180 mg/dl\*\* bzw. 0,9 - 1,8 g/l

\*\* Referenzwerte gemäß CRM 470 Protein-Standardisierung

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die C3c-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

### Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 4 mg/dl bzw. 0,04 g/l  
Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren C3c-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie wird berechnet als die Konzentration, die drei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards liegt. (Nullstandard + 3 SD, Serienpräzision, n = 21)

### Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit in Serie wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

| Probe       | In der Serie |             |         |
|-------------|--------------|-------------|---------|
|             | MW<br>mg/dl  | SD<br>mg/dl | VK<br>% |
| Kontrolle 1 | 75,9         | 1,03        | 1,35    |
| Kontrolle 2 | 101,0        | 0,82        | 0,81    |
| Kontrolle 3 | 152,3        | 1,98        | 1,30    |

Die Reproduzierbarkeit von Tag zu Tag wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

| Probe       | Tag / Tag   |             |         |
|-------------|-------------|-------------|---------|
|             | MW<br>mg/dl | SD<br>mg/dl | VK<br>% |
| Kontrolle 1 | 81,8        | 1,84        | 2,25    |
| Kontrolle 2 | 162,5       | 3,78        | 2,33    |
| Kontrolle 3 | 244,6       | 5,79        | 2,37    |

### Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex® C3c (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 40 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,00 x + 2,75; \quad r = 0,997$$

### Qualitätskontrolle:

Protein Control Level 1      3 x 1 ml      #7661  
 Protein Control Level 2      3 x 1 ml      #7662

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

### Kalibration:

Standardisierung: Die C3c-Methode wurde an der Referenzpräparation CRM 470 abgeglichen (RPPHS - Reference Preparation for Proteins in Human Serum).

#### • Roche/Hitachi 911/917

S1: NaCl (0,9%)  
 S2-S6: Bio Cal® P      5 x 1 ml      #1470

Faktoren für die Berechnung der Standardkonzentrationen der Sechspunkt-Kalibrationskurve aus dem chargenspezifischen Sollwert des Bio Cal P:

S2: 0,143      S5: 1,000  
 S3: 0,286      S6: 1,333  
 S4: 0,350

### Kalibrationshäufigkeit

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

### Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

### Literatur:

1. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
2. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995: 1159-62
3. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preamerical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
4. Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und des Verbandes der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
5. Müller-Eberhard HJ. Complement: Chemistry and pathways. In: Inflammation: Basic principles and clinical correlates. Gallin I, Goldstein IM, Snyderman R (Hrsg.) New York: Raven Press, 1988:21-53
6. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
7. Thomas L (Hrsg.) Labor und Diagnose, 5. Auflage. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH 1998:812-823
8. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia Pa.: WB Saunders, 1995: 164-165