

# C1 Esterase Inhibitor

Diagnostic reagent for the quantitative *in vitro* determination of C1 Esterase Inhibitor in human serum by turbidimetric assay

REF	Content
<b>A00512</b>	1x 5 mL C1 Esterase Inhibitor Antibody Reagent 2x 25 mL PEG6 Buffer
Additionally offered:	
A00704	5x 1 mL Protein Calibrator 5 Level Series
A00580	1x 1 mL Protein Calibrator High
A00703	1x 5 mL Protein Calibrator High
A00701	1x 1 mL Protein Calibrator Low
A00702	1x 5 mL Protein Calibrator Low
A00590	1x 1 mL Protein Control
A00800	1x 5 mL Protein Control
A08591	1x 1 mL Protein Control Low
A08823	1x 5 mL Protein Control Low

## GENERAL INFORMATION

<b>Method</b>	Immunoturbidimetric
<b>Reaction</b>	Nonlinear, endpoint
<b>Wavelength</b>	340 nm
<b>Assay Temperature</b>	18 – 37 °C
<b>Sample</b>	Serum
<b>Measuring Range</b>	approx. 0 – 90 mg/dL
<b>Sensitivity</b>	1.6 mg/dL (Cobas Mira)
<b>Hook Effect</b>	without sample dilution: > 700 mg/dL (Cobas Mira) with sample dilution: > 670 mg/dL (Cobas Mira)
<b>Manual Test Procedure</b>	<b>Tests/Kit*</b>
without sample dilution	66
with sample dilution	100

## Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

\* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

## REAGENT COMPOSITION

### COMPONENTS FINAL CONCENTRATION

<b>C1 Esterase Inhibitor Antibody Reagent</b>	
Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for C1 Esterase Inhibitor	
C1 Esterase Inhibitor	variable
Sodium azide	0.095 %

### PEG6 Buffer

Phosphate buffered saline	
PEG	6 %
Sodium azide	0.095 %

## REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

## REAGENT STABILITY AND STORAGE

<b>Conditions:</b>	Protect from light. Close immediately after use.	
<b>Stability:</b>	at 2 – 8 °C	up to the expiration date
	at 18 – 25 °C	1 month

Do not freeze!

## SAMPLE STABILITY AND STORAGE

<b>Stability:</b>	at 2 – 8 °C	48 hours
	at – 20 °C	3 months

Freeze only once!

## MANUAL TEST PROCEDURE

### Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator with 0.9% saline as diluent or use the 5 level calibrator series. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	8 µL	8 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	75 µL	75 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

### Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	60 µL	60 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	50 µL	50 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

## CALCULATION

Calculate and plot  $\Delta A = (A2 - A1)$  of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate  $\Delta A$  optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

## REFERENCE RANGE

23 – 41 mg/dL

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

## TEST PRINCIPLE

The assay of C1 Esterase Inhibitor is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG.

## DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

C1 Esterase Inhibitor is an  $\alpha$ -2 globulin that controls the first stage of the classical complement pathway and also inhibits plasmin, thrombin and kallikrein. C1 Esterase Inhibitor is very important in the diagnosis of hereditary angioneurotic oedema; a disease characterized by subcutaneous, bronchial and gastrointestinal oedema. Laboratory findings include low levels of C4 and C1 Esterase Inhibitor, but normal levels of C3. In about 15 % of the cases, levels of C1 Esterase Inhibitor are normal, but the protein is non-functional. In such cases, a functional assay for the inhibitor is essential to diagnosis.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### SENSITIVITY

1.6 mg/dL (Cobas Mira)

### ACCURACY

Controls from different companies were measured on the Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Dialab	28.4 (24.1 - 32.7)	26.9
Behring	24.0 (20.4 - 27.6)	24.3

## PRECISION

### Intra-Assay Precision

3 Serum Samples were consecutively measured on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	11	12.9	0.49	3.81
Medium	10	24.9	0.48	1.91
High	10	40.58	1.14	2.81

### Inter-Assay Precision

The test was performed with 3 serum samples. The sera were stored at 4 °C.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	14	14.3	1.32	9.21
Medium	14	26.7	0.78	2.91
High	14	51.6	2.07	4.00

## METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:  
 $y = 1.1397x - 10.265$ ;  $r = 0.9946$

## INTERFERING SUBSTANCES

Turbidimetry and particles in the sample can interfere with the test. Therefore particulates resulting from incomplete coagulation or denaturation of proteins should be removed prior to assay by centrifugation.

## QUALITY CONTROL

All commercially available Control sera with C1 Esterase Inhibitor values measured by this method may be used. We recommend the Dialab Protein Control and the Protein Control Low.

## CALIBRATION

The assay requires the use of C1 Esterase Inhibitor serum Calibrators. We recommend the Dialab Protein Calibrator 5 Level Series, the Protein Calibrator High or the Protein Calibrator Low.

## AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

## WARNINGS AND PRECAUTIONS

- The C1 Esterase Inhibitor reagents are intended for *in vitro* diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

## WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

## REFERENCES

- Shapira, M. et al., Complement 2, 111 (1985)
- Thomas, L. (Hrsg.), Labor und Diagnose, Die Medizinische Verlagsgesellschaft, Marburg 1992
- Rozen, F. S. et al., Science 148, 957 (1965)
- Starcevic, d. et al., Ann. Clin. Biochem. 28, 595 (1991)



# C1 Esterase Inhibitor

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von  
 C1 Esterase Inhibitor in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF	Inhalt
A00512	1x 5 mL C1 Esterase Inhibitor Antikörperreagenz 2x 25 mL PEG6 Puffer
Zusätzlich wird angeboten:	
A00704	5x 1 mL Protein Kalibrator 5 Level Serie
A00580	1x 1 mL Protein Kalibrator Hoch
A00703	1x 5 mL Protein Kalibrator Hoch
A00701	1x 1 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00702	1x 5 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00590	1x 1 mL Protein Kontrolle
A00800	1x 5 mL Protein Kontrolle
A08591	1x 1 mL Protein Kontrolle Niedrig
A08823	1x 5 mL Protein Kontrolle Niedrig

**ALLGEMEINE INFORMATION**

**Methode:** Immunoturbidimetrisch  
**Reaktion:** Nicht-linear, Endpunkt  
**Wellenlänge:** 340 nm  
**Testtemperatur:** 18 – 37 °C  
**Probe:** Serum  
**Messbereich:** ca. 0 – 90 mg/dL  
**Sensitivität:** 1.6 mg/dL (Cobas Mira)  
**Hook-Effekt** ohne Probenverdünnung: > 700 mg/dL (Cobas Mira)  
 mit Probenverdünnung: > 670 mg/dL (Cobas Mira)

**Manuelle Testdurchführung Tests/Kit\***  
 ohne Probenverdünnung 66  
 mit Probenverdünnung 100

**Automatische Testdurchführung**  
 Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

\* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

**REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG**

KOMPONENTEN	ENDKONZENTRATION
<b>C1 Esterase Inhibitor Antikörperreagenz</b>	
Turbidimetrisch-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für	
C1 Esterase Inhibitor	variabel
Natriumazid	0.095 %
<b>PEG6 Puffer</b>	
Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung	
PEG	6 %
Natriumazid	0.095 %

**REAGENZIENVORBEREITUNG**  
 Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

**REAGENZIENSTABILITÄT UND -LAGERUNG**

Bedingungen: Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.  
 Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum  
 bei 18 – 25 °C 1 Monat

Nicht einfrieren!

**PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG**

Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C 48 Stunden  
 bei – 20 °C 3 Monate

Nur einmal einfrieren!

**MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG**

**Testdurchführung ohne Probenverdünnung:**  
 Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig  
 Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen oder die 5 Level Kalibratorserie verwenden. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	8 µL	8 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	75 µL	75 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

**Testdurchführung mit Probenverdünnung:**  
 Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9% Kochsalzlösung verdünnen  
 Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	60 µL	60 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	50 µL	50 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

**BERECHNUNG**

Das  $\Delta A = (A2 - A1)$  jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebenen Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die  $\Delta A$  optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

## REFERENZBEREICH

23 – 41 mg/dL  
 Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

## TESTPRINZIP

Dieser Test für C1 Esterase Inhibitor basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

## DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

C1 Esterase Inhibitor ist ein  $\alpha$ -2 Globulin, das die erste Phase des klassischen Komplementsystems kontrolliert und auch Plasmin, Thrombin und Kallikrein inhibiert. Der C1 Esterase Inhibitor ist wichtig für die Diagnose von angeborenen angioneurotischen Ödemen; eine Krankheit, die durch subkutane, bronchiale und gastrointestinale Ödeme charakterisiert wird. Laborbefunde beinhalten niedrige C4- und C1 Esterase Inhibitor-Werte, jedoch normale C3-Werte. In ca. 15% der Fälle sind die C1 Esterase Inhibitor-Werte normal, das Protein jedoch nicht funktionsfähig. In solchen Fällen ist ein funktioneller Test für den Inhibitor für die Diagnose erforderlich.

## LEISTUNGSMERKMALE

**SENSITIVITÄT**  
 1.6 mg/dL (Cobas Mira)

**GENAUIGKEIT**  
 Kontrollen verschiedener Hersteller wurden auf dem Cobas Mira getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Dialab	28.4 (24.1 - 32.7)	26.9
Behring	24.0 (20.4 - 27.6)	24.3

## PRÄZISION

**Präzision innerhalb der Serie**  
 3 Serumproben wurden nacheinander auf dem Cobas Mira getestet.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	11	12.9	0.49	3.81
Mittel	10	24.9	0.48	1.91
Hoch	10	40.58	1.14	2.81

**Präzision zwischen den Serien**  
 Der Test wurde mit 3 Serumproben durchgeführt. Die Seren wurden bei 4 °C gelagert.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	14	14.3	1.32	9.21
Mittel	14	26.7	0.78	2.91
Hoch	14	51.6	2.07	4.00

**METHODENVERGLEICH**  
 Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:  
 $y = 1.1397 x - 10.265$ ;  $r = 0.9946$

## STÖRENDE SUBSTANZEN

Trübung und Partikel in der Probe können den Test beeinträchtigen. Daher sollten Partikel, aus unvollständiger Koagulation oder denaturierten Proteinen, vor der Testdurchführung durch Zentrifugieren entfernt werden.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Alle kommerziell erhältlichen Kontrollseren, bei denen C1 Esterase Inhibitor mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Protein Kontrolle und die Protein Kontrolle Niedrig.

## KALIBRATION

Für diesen Test werden C1 Esterase Inhibitor Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen die Dialab Protein Kalibrator 5 Level Serie, den Protein Kalibrator Hoch oder den Protein Kalibrator Niedrig.

## AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

## WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die C1 Esterase Inhibitor Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet

## ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

## BIBLIOGRAPHIE

- Shapira, M. et al., Complement 2, 111 (1985)
- Thomas, L. (Hrsg.), Labor und Diagnose, Die Medizinische Verlagsgesellschaft, Marburg 1992
- Rozen, F. S. et al., Science 148, 957 (1965)
- Starcevic, d. et al., Ann. Clin. Biochem. 28, 595 (1991)

