



BIOCLONE

ELEGANCE

IGFBP-2 ELISA KIT

REF 40 BP296

Σ 96

DEUTSCH



GARANTIE

Der Hersteller gewährt keine andere Garantie außer der, dass der Diagnostikkit den betreffenden Analyten misst, wenn er gemäß der gedruckten Gebrauchsanweisung des Herstellers verwendet wird. Die Verwendung des Diagnostikkits für jeden anderen Zweck ist nicht Teil des Verwendungszwecks dieses Produktes und erfolgt auf Risiko des Benutzers. Der Hersteller lehnt alle vorausgesetzten Garantien hinsichtlich einer allgemeinen Gebrauchstauglichkeit, Verwendungstauglichkeit oder vorausgesetzten Verwendbarkeit für jeden anderen Zweck ab. Alle durch einen bei anweisungsgerechter Verwendung auftretenden Fehler des Diagnostikkits sind auf den Ersatzwert des Kits beschränkt. Die Garantie der Bioclone Australia Pty Limited und ihrer Vertriebshändler beschränkt sich ausschließlich auf den Umtausch des Produkts oder die Rückerstattung des Kaufpreises. Bioclone Australia Pty Limited haftet nicht für durch das Produkt verursachte Eigentumsbeschädigung, Körperverletzung oder wirtschaftlichen Verlust.

Hergestellt durch Bioclone Australia Pty Limited
(ein Tochterunternehmen der Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071
71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIEN 2204
Tel +61 (0) 2 9517 1966 Fax +61 (0) 2 9517 2990 Freecall 1800 251 138
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au



Hitachi Chemical Diagnostics Inc.

Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

VERWENDUNGSZWECK

Der ELEGANCE IGFBP-2 ELISA dient der quantitativen *in-vitro* diagnostischen Bestimmung von IGFBP-2 (Insulin-like Growth Factor Binding Protein 2) im Serum.

TESTPRINZIP ELEGANCE ELISA

Dieser ELISA basiert auf einem Enzyme-Linked Immunoassay, bei dem polyklonales Kaninchen-Anti-IGFBP-2 (Antikörperreagenz) und biotinierte IGFBP-2 (konjugiertes Reagenz) eingelagert werden.

Polyklonale Anti-Kaninchenantikörper werden als Auffangantikörper an die Mikrotiterstreifen gebunden. Die Proben werden mit Kalibrator A 1:25 vorverdünnt. Der Kit enthält einen Test, bei dem Kalibrator oder Probe-IGFBP-2 mit biotinmarkiertem IGFBP-2 konkurriert. Nach einer Inkubation über Nacht mit dem Antikörper werden die Mikrotiterstreifen gewaschen, um jegliches ungebundene Material zu entfernen. Streptavidinperoxydase (Amplifikationsreagenz) wird zugegeben und bindet sich an den biotinierten Antikörper in vielen Bindungsstellen. Nach dem Waschen reagiert die Substratlösung mit jeder gebundenen Peroxydase und entwickelt direkt proportional zur Menge des Probenantigens Farbe, was anhand der Kalibratorkurve errechnet werden kann.

MITGELIEFERTE REAGENZIEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgröße - 96 Tests. Der Kit und alle Komponenten sollten geöffnet oder ungeöffnet bei 2-8°C innerhalb des angegebenen Verfalldatums gelagert werden.

IGFBP-2:

Beschichtete Mikrotiterstreifen 96 Vertiefungen REF # BP2A96
Rack, das Mikrotiterstreifen enthält, die mit anti-IGFBP-2 Antikörper beschichtet sind. Gebrauchsfertig.

IGFBP-2:

Antikörperreagenz 1 Fläschchen REF # BP2B96
2.5 mL IGFBP-2 Antikörper in einer gepufferten Lösung, die BSA und einen blauen Farbstoff enthält. Enthält Bronidox L, 0.2% v/v und Thiomersal, 0.02% w/v. Gebrauchsfertig.

IGFBP-2:

Amplifikationsreagenz 1 Fläschchen REF # BP2P96
10 mL Streptavidinperoxydase (Streptavidin von *S. avidinii*) in einer gepufferten Lösung, die BSA und einen purpurroten Farbstoff enthält. Enthält Bronidox L, 0.2% v/v und Thiomersal, 0.02% w/v. Gebrauchsfertig.

Konjugiertes Reagenz

1 Fläschchen REF # BP2C96
2.5 mL biotiniertes anti-IGFBP-2 Antikörper in einer gepufferten Lösung, die BSA und einen roten Farbstoff enthält. Enthält Bronidox L, 0.2% v/v und Thiomersal, 0.02% w/v. Gebrauchsfertig.

Waschkonzentrat

1 Fläschchen REF # EWC96
50 mL einer 15-fach konzentrierten Waschlösung. Enthält Thiomersal, 0.09% w/v. Vor Gebrauch verdünnen.
Substratlösung TMB N 1 Fläschchen REF # TMBB96
10 mL 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) und Hydrogenperoxydase in einer Stabilisierlösung. Gebrauchsfertig.

IGFBP-2: Kalibratoren / Kontrolle

1 Fläschchen REF # EBP2S1
5 Fläschchen REF # EBP2S2-6
1 Fläschchen REF # EBP2C1
20 mL Kalibrator A (0 ng/mL Konzentrat), 4-fach konzentrierte BSA-PBS Pufferlösung. Enthält Thiomersal 0.01% w/v und Bronidox L, 0.2% v/v. Vor Gebrauch verdünnen.
0.5 mL in Kalibrator B-F und Kontrolle 1, jeweils in 1%iger BSA-PBS Pufferlösung. Enthält Thiomersal 0.01% w/v und Bronidox L 0.2% v/v.
Lyophilisiert.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

Behandlung der Proben und Komponenten des Kits, deren Verwendung, Lagerung und Entsorgung sollte gemäß der lokalen oder nationalen Laborsicherheitsvorschriften oder Richtlinien erfolgen. Nur für Fachpersonal.

Proben und Kalibratoren

Die Ausgangsstoffe der Kalibratoren und Kontrollen wurden mit einer anerkannten, zugelassenen Methode für das Vorliegen von Hepatitis B Oberflächenantigen, Hepatitis C Antikörper und HIV - Antikörper 1/2 (AIDS) getestet und insgesamt als nicht reaktiv befunden. Trotzdem empfiehlt es sich, alle Proben als potentiell infektiös zu betrachten.

Konservierungsstoffe

Dieser Kit enthält Thiomersal und Bronidox L als Konservierungsstoffe. Da die Reagenzien einen potentiell toxischen Konservierungsstoff enthalten, sollte vorsichtig mit diesen umgegangen werden, um Verschlucken oder Hautkontakt zu vermeiden.

Substrat

Jegliches Hautkontakt vermeiden.

PROBENENTNAHME UND HANDHABUNG

Es ist keine spezielle Patientenvorbereitung notwendig. Als Probenmaterial kann Serum verwendet werden, das labortestgerecht zu entnehmen ist. Stark hämolytierte, lipämische und trübe Proben sind zu vermeiden. Die Proben können bei 2-8°C bis zu 48 Stunden gelagert werden. Länger zu lagernde Proben sollten bei -20°C oder darunter gelagert werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden. Aufgetaute Proben sollten auf Ausflockungen geprüft werden und durch Umdrehen über Kopf kurz vor Gebrauch gemischt werden.

Trübe Proben oder Proben, die Partikel enthalten, sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden.

ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND GERÄT

- * Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- * 2 M HCl
- * Präzisionspipetten
- * Multipipette
- * 1L Messzylinder
- * Saugfähiges Papier (flusenfrei)
- * Timer
- * Vortexmischer
- * Mikrotiter Plattenschüttler
- * Mikrotiter Plattenwascher
- * Mikroplattenlesesystem

HINWEISE ZUM VERFAHREN

Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-25°C) und vor Gebrauch vorsichtig mischen (über Kopf umdrehen). Doppelbestimmungen sind empfehlenswert. Kontamination der Reagenzien führt zu schlechten Ergebnissen. Bei jedem Test sollte eine Kalibratorkurve angelegt werden. Proben, bei denen Verdacht auf Überschreitung des Kalibratorhöchstwerts besteht, sind vor dem Test mit Nullkalibrator zu verdünnen. Alle Testschritte sollten ohne Unterbrechung durchgeführt werden; sollte es jedoch nicht möglich sein, die Vertiefungen unmittelbar nach dem Waschen mit Amplifikationsreagenz oder Substratlösung aufzufüllen, dann sollten die Mikrotiterstreifen maximal 15 Minuten lang über Kopf umgedreht auf flusenfreiem saugfähigem Papier stehen gelassen werden. Die Reagentien sind aufeinander abgestimmt, Reagentien unterschiedlicher Lotnummern nicht miteinander mischen. Das Fotometer und alle verwendeten Pipetten sind vor Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

Waschen

Die Effizienz jedes Waschschriffs ist entscheidend für eine gute Präzision. Die Mikrotiterstreifen werden mit Hilfe eines automatischen Plattenwaschers gewaschen. Überschwappen von einer Vertiefung zur anderen ist zu vermeiden.

Qualitätskontrolle

Kontrollproben sollten bei jedem Test mitbestimmt werden, um eine korrekte Testdurchführung zu garantieren. Vor einer Freigabe der Testergebnisse sollten die Kontrollwerte innerhalb der vorgegebenen Bereiche liegen.

TESTVERFAHREN

Vorbereitung der Reagentien Waschlösung

Waschkonzentrat 1 zu 15 mit entionisiertem Wasser verdünnen. Die Waschlösung kann bei Raumtemperatur (20-25°C) 12 Wochen lang gelagert werden.
Kalibratoren und Kontrolle
Zur Rekonstitution der lyophilisierten Kalibratoren und Kontrollen das auf jedem Fläschchenlabel angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben.

Fläschchens bis zur vollständigen Lösung ruhig stehen lassen (mindestens 30 Minuten) und dann mischen (durch Umdrehen über Kopf). Die exakten chargenabhängigen Konzentrationen sind auf einem separaten im Kit enthaltenen Blatt angegeben.

Nach Rekonstitution sollten die Kalibratoren und Kontrollen bei -20°C gelagert werden.

Verdünnungen

Kalibrator A

0 ng/mL Konzentrat

Kalibrator A 1 zu 4 mit entionisiertem Wasser verdünnen. Wenn der Kalibrator A kristallisiert, auf 37°C erwärmen. Die Kalibrator A-Lösung wird dann auch als Probenverdünnungslösung verwendet und ist bei 2-8°C innerhalb des Haltbarkeitsdatums lagerbar.

Probenvorbereitung

Die Proben (nicht die Kalibratoren / Kontrollen) sind 1 zu 25 zu verdünnen.

1. Verdünnungsröhrchen kennzeichnen (1 pro Probe)
2. 10 µL Probe pipettieren, 250 µL Kalibrator A-Verdünnungslösung zugeben. Vortexen.

Protokoll

1. Mikrotiterstreifen entsprechend der Anzahl der erforderlichen Tests im Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen verschließen und wieder bei 2-8°C lagern.
2. 50 µL Probe (Kalibrator, Kontrolle, Probe) in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren (Doppelbestimmung). Die Zeit zum Verteilen der Proben sollte 20 Minuten nicht überschreiten.
3. 25 µL IGFBP-2 konjugiertes Reagenz (rot) in alle Vertiefungen pipettieren.
4. 25 µL IGFBP-2 Antikörperreagenz (blau) in alle Vertiefungen pipettieren.
5. Mikrotiterstreifen mit Deckel zudecken und über Nacht (16-24 Stunden) ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
6. Nach der Inkubation die Mikrotiterstreifen waschen. Flüssigkeit aspirieren und jede Vertiefung 4 mal mit 250 µL Waschlösung spülen. Nach dem letzten Waschen die Mikrotiterstreifen über Kopf umdrehen und fest auf einem Saugtuch aufklopfen, um alle Waschlösungsreste zu entfernen. Sicherstellen, dass keine Luftblasen in den Vertiefungen zurückbleiben.
7. 100 µL IGFBP-2 Amplifikationsreagenz (purpurrot) in alle Vertiefungen pipettieren..
8. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 10 Minuten lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
9. Nach der Inkubation den Waschschritt wiederholen.
10. 100 µL Substratlosung in alle Vertiefungen pipettieren. Die Zeit des Inkubationsschrittes wird ab der Zugabe der Substratlosung zur ersten Vertiefung gemessen.

11. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 5 Minuten lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.

12. 50 µL einer 2M HCl in alle Vertiefungen in der gleichen Zeitabfolge wie für die Substratlosungszugabe pipettieren.

13. Eine Endpunktablesung bei 450 nm durchführen und die Daten entsprechend den im Benutzerhandbuch des Mikroplattenlesers aufgeführten Angaben verarbeiten. Dieser Leseschritt sollte innerhalb von 30 Minuten ab Reaktionsstopp durchgeführt werden.

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung der Ergebnisse ist manuell möglich, wenn keine automatische Datenauswertung vorhanden ist. OD für jede Vertiefung bestimmen. Kalibratorkurve auf einem log-log-Grafikpapier mit den Konzentrationen des Kalibrators auf der X-Achse und den OD auf der Y-Achse auftragen. Die Kurve kann von Punkt zu Punkt oder mit Hilfe einer Kurvenschablone gezeichnet werden, wie zum Beispiel Splineinterpolation. Die an dieser Kalibratorkurve gemessenen Probenwerte vom OD interpolieren.

Den Wert jeder Probe in ng/mL IGFBP-2 aufzeichnen.

Die Kalibratoren sind auf eine Probenverdünnung von 1 zu 26 ausgerichtet.

Der Bereich des *ELEGANCE* IGFBP-2 ELISA reicht von 0 bis ungefähr 3000 ng/mL, aber die maximal aufzeichnbare Konzentration wird durch die linearen Leistungsmerkmale des verwendeten Fotometers beschränkt.

Wenn der cpm-Mittelwert des höchsten Kalibratorwerts über dem Bereich des Fotometers liegt, dann muss dieser Kalibrator aus der Zeichnung der Kalibratorkurve weggelassen werden.

BERECHNUNGSBEISPIEL

Endpunkt Daten		
ID	OD	IGFBP-2 (ng/mL)
0	2.171	
82.7	1.786	
262	1.287	
529	0.839	
1226	0.531	
2766	0.321	
Kontrolle 1	0.779	642.0

KALIBRATION

Die Kalibratoren dieses Kits wurden in ng/mL angegeben und standardisiert, beziehen sich auf das Grundmaterial und wurden durch Aminosäureanalyse quantifiziert. Umrechnung auf nmol/L wie folgt:

$$\text{nmol/L} = \frac{\text{ng/mL}}{0.0321}$$

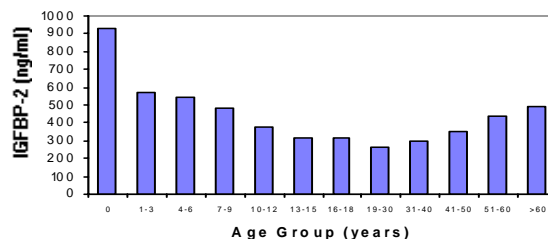
GRENZEN DES VERFAHRENS

Stark hämolytierte, lipämische oder trübe Proben können zu falschen Ergebnissen führen.

ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor auf Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich ermittelt. Folgender Referenzbereich wurde durch Testen von Serumproben von Gesunden ermittelt und dient nur als Beispiel:

Combined (M & F) Normal Range (IGFBP-2) (n=537)



TESTCHARAKTERISTIKA

Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW ± 2SD (ng/mL)	%CV
1	19	156 ± 32	10.2
2	19	585 ± 65	5.5
3	19	1567 ± 221	7.1

Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW ± 2SD (ng/mL)	%CV
1	18	113 ± 22	9.7
2	18	684 ± 118	8.6
3	18	1313 ± 182	6.9

* Doppelbestimmung

Spezifität

Analyt	Getestete Konzentration	Kreuzreaktivität
IGFBP-1	130 µg/mL	Nicht nachweisbar
IGFBP-3	130 µg/mL	Nicht nachweisbar
IGFBP-4	130 µg/mL	Nicht nachweisbar
IGFBP-5	130 µg/mL	Nicht nachweisbar
IGFBP-6	130 µg/mL	Nicht nachweisbar
IGF-I	130 µg/mL	Nicht nachweisbar
IGF-II	130 µg/mL	Nicht nachweisbar
GH	11 µg/mL	Nicht nachweisbar

Richtigkeit-Wiederfindung

Die Wiederfindung wurde durch Messung vor und nach Zugabe von exogenem Analyt bestimmt.

Probe	IGFBP-2 (ng/mL)		%Wiederfindung
	Gemessen	Erwartet	
1	125	121	103
2	270	282	96.3
3	934	910	103.0
4	1457	1520	95.7

Richtigkeit-Verdünnung

Eine Probe wurde mit Nullkalibrator verdünnt, gemessen und die Wiederfindung wurde berechnet.

Probe	IGFBP-2 (ng/mL)		%Wiederfindung
	Gemessen	Erwartet	
Neat	1866		
1/2	1039	933	111.4
1/4	467	467	100.0
1/8	221	233	94.9

Sensitivität

Die Sensitivität des Assays liegt charakteristischerweise unter 10 ng/mL. Hinsichtlich der tatsächlichen Konzentration von IGFBP-2 liegt die Sensitivität charakteristischerweise unter 0.4 ng/mL. Die Nachweisgrenze dieses Assays ist definiert als die Analytkonzentration, die dem OD von 8 Bestimmungen des Nullkalibrators minus 2 Standardabweichungen in drei verschiedenen Assays entspricht.

Interferenz

Es wurden keine Interferenzen mit der Analytwiederfindung bei Hämoglobinkonzentrationen bis zu 250 mg/dL, Bilirubin bis 10 mg/dL und Triglyzeriden bis 970 mg/dL beobachtet.

BESTELLINFORMATION

Der *ELEGANCE* IGFBP-2 ELISA wird hergestellt von:

Bioclone Australia Pty Limited,
 71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIEN.

Telefon +61 (0) 2 9517 1966 Freecall 1800 251 138

Fax +61 (0) 2 9517 2990

Email sales@bioclone.com.au

Web: www.bioclone.com.au

TECHNISCHER KUNDENDIENST

Vollständiger technischer Kundendienst ist erhältlich durch Anruf bei Bioclone unter der Nummer +61 (0) 2 9517 1966 oder Freecall 1800 251 138