



IGFBP-3 RIA KIT

REF 10 095100

Σ 100

DEUTSCH



GARANTIE

Der Hersteller gewährt keine andere Garantie außer der, dass das Diagnosekit den betreffenden Analyt misst, wenn es gemäß den gedruckten Anleitungen des Herstellers verwendet wird. Die Verwendung des Diagnosekits für jeden anderen Zweck ist nicht Teil des Verwendungszwecks dieses Produkts und geht zum eigenen 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 anleitungsgerechter Verwendung auftretende Fehler des Diagnosekits 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 Numero verde 1800 251 138
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

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

VERWENDUNGSZWECK

Der IGFBP-3 RIA dient der quantitativen *in-vitro* diagnostischen Bestimmung von IGFBP-3 (Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3) im Serum oder Plasma.

TESTPRINZIP

Dieser Assay basiert auf dem Doppelantikörper-Radioimmunoassay-System. Der Analyt konkurriert mit dem ¹²⁵I-markiertem Tracer um die Bindung an eine konstante Antikörpermenge. Ein zweiter Antikörper/PEG-Komplex wird zur Trennung von antikörpergebundenem und freiem ¹²⁵I-markiertem Tracer verwendet. Nach Zentrifugation wird der Überstand entfernt und das Pellet mit der gebundenen Radioaktivität mit Hilfe eines Gammacounters gezählt. Die Konzentration des Analyten ist umgekehrt proportional zur gebundenen Radioaktivität in den Pellets. Die Counts der Kalibratoren werden grafisch dargestellt und die Probenresultate werden aus der erstellten Standardkurve abgelesen.

MITGELIEFERTE REAGENZIEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgröße - 100 Tests. Der Kit und alle Komponenten sind bei 2-8°C geöffnet oder ungeöffnet innerhalb des

angegebenen Verfalldatums zu lagern.

IGFBP-3: Tracer

1 Fläschchen REF # BPI1
11 ml ¹²⁵I-markiertes IGF-I, kovalent gebunden an IGFBP-3, (1µCi) in BSA-PBS Puffer, mit rotem Farbstoff. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

IGFBP-3: Antiserum

1 Fläschchen REF # BPA1
11 ml Anti-IGFBP-3 Antiserum (Kaninchen), verdünnt in BSA-PBS Puffer, mit blauem Farbstoff. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

Präzipitationsreagenz

1 Fläschchen REF # SME1
55 ml Tierserum und Polyethylenglykol in BSA-PBS Puffer. Enthält Bronidox L 0,25% v/v. Vor Gebrauch vorsichtig mischen.

IGFBP-3: Kalibratoren

1 Fläschchen REF # BPS1
50 ml Kalibrator A (0 µg/ml Konzentrat), 4-fach konzentrierte BSA PBS Pufferlösung. Enthält Natriumazid, 0,4% w/v. Vor Gebrauch verdünnen.

5 Fläschchen REF # BPS2-6
1,0 ml Kalibrator B-F, in BSA-PBS Puffer. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Lyophilisiert.

IGFBP-3: Controls

2 Fläschchen REF # BPC1-2
1,0 ml in BSA-PBS Puffer. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Lyophilisiert.

Nicht verdünnen.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

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

Proben, Kalibratoren und Kontrollen

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 wurden insgesamt als nicht reaktiv befunden. Trotzdem empfiehlt es sich, alle Proben als potentiell infektiös zu betrachten.

Konservierungsstoffe
Dieser Kit enthält Natriumazid 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.

Natriumazid kann mit Blei- und Kupferrohrleitungen reagieren und potentiell explosive Säuren bilden.

Radioaktives Material
Der Tracer enthält radioaktives Material.

PROBENENTNAHME UND HANDHABUNG
Keine spezielle Patientenvorbereitung notwendig. Als Probenmaterial kann Serum oder Plasma verwendet werden, das labortestgerecht zu entnehmen ist.

Serum ist vorzuziehen, trotzdem können die Antikoagulantien Heparin oder EDTA ohne Genauigkeitseinbußen verwendet werden. Stark hämolysierte, lipämische und trübe Proben sind zu vermeiden. 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 gefroren 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 GERÄTE

- * Destilliertes und entionisiertes Wasser
- * Einwegplastikröhrchen mit Deckel 12 x 75 mm
- * Präzisionspipetten
- * Multipipette

- * 100 ml Messzylinder
- * Vortexmischer
- * Timer
- * Kühlzentrifuge (Leistung 2000 x g)
- * Saugfähiges Papier
- * Gammacounter

HINWEISE ZUM VERFAHREN

Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-25°C) und vor Gebrauch vorsichtig mischen (über Kopf umdrehen). Es wird empfohlen, Doppelbestimmungen durchzuführen. Kontamination der Reagenzien führt zu schlechten Ergebnissen. Bei jedem Test sollte eine Kalibrator Kurve angelegt werden. Alle Testschritte sollten ohne Unterbrechung durchgeführt werden. Die Reagenzien sind aufeinander abgestimmt; Reagenzien unterschiedlicher Lotnummern nicht untereinander mischen. Der Gammacounter und alle verwendeten Pipetten sind vor Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

Sollte eine Zentrifuge nicht mindestens 2000 x g erreichen, kann das Pellet instabil sein. Die Zentrifugierzeit ist dann zu erhöhen.

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 Reagenzien

Präzipitationsreagenz
Vor Gebrauch vorsichtig mischen.

Kalibratoren und Kontrollen

Zur Rekonstitution der lyophilisierten Kalibratoren und Kontrollen das auf jedem Fläschchenlabel angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben. Fläschchen bis zur vollständigen Lösung ruhig stehen lassen (mind. 30 Min.) und dann mischen (durch Umdrehen über Kopf). Die exakten chargenabhängigen Konzentrationen sind auf einem separaten im Kit enthaltenen Blatt angegeben. Nach Rekonstitution können die Kalibratoren und Kontrollen bei -20°C gelagert werden.

Verdünnungen

Kalibrator A

0 µg/ml Konzentrat

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

Probenvorbereitung

Die Proben (nicht die Kalibratoren/Kontrollen) sollten 1 zu 200 verdünnt werden. Proben mit niedriger Konzentration können 1 zu 100 verdünnt werden. Diese Werte sind für die Berechnung der Probenkonzentration durch 2 zu dividieren.

1. Verdünnungsröhrchen kennzeichnen (1 pro Probe).
- 2a. Für 1:99 - 10 µl Probe pipettieren, 0,99 ml des 0 µg/ml Probenverdünnungslösung zugeben.
- b. Für 1:199 - 10 µl Probe pipettieren, 1,99 ml des 0 µg/ml Probenverdünnungslösung zugeben
3. Vortexen.

Testdurchführung

1. Die entsprechende Anzahl der benötigten Teströhrchen zusammenstellen und kennzeichnen (Doppelbestimmung), inkl. Röhrchen für die Totalaktivität (TA), nicht-spezifische Bindung (NSB), Kalibratoren, Kontrollen und die verdünnten Proben.
2. 200 µl der 0 µg/ml Kalibrator A in die NSB-Röhrchen pipettieren (Doppelbestimmung).
3. 100 µl der Proben (Kalibrator, Kontrollen und verdünnten) in die entsprechenden Röhrchen pipettieren (Doppelbestimmung).

4. 100 µl IGFBP-3 Antiserum (blau) in alle Röhrchen außer NSB und TA pipettieren.
5. 100 µl IGFBP-3 Tracer (rot) in alle Röhrchen pipettieren.
6. Röhrchen vorsichtig vortexen und über Nacht bei Raumtemperatur (20-25°C, 16-24 h) inkubieren. Alle Röhrchen sollten purpurrot sein, mit Ausnahme der NSB und TA.
7. Am Ende der Inkubationszeit 500 µl des gründlich gemischten Präzipitationsreagenz in alle Röhrchen außer TA pipettieren und vortexen. TA Röhrchen zur Seite stellen und 15 Min. bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
8. Alle Röhrchen 20 Min. bei 2000 x g in einer Kühlzentrifuge (4°C) zentrifugieren.
9. Unmittelbar nach dem Zentrifugieren den Überstand vollständig abgießen. Röhrchen sanft auf Saugpapier aufklopfen und die Ränder abstreifen, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen.
10. Den Inhalt aller Röhrchen im Gammacounter eine Minute lang zählen. Längeres Zählen reduziert statistische Zählfehler. Die cpm jedes Röhrchens dokumentieren.

11. Ergebnisse berechnen.

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung der Ergebnisse ist manuell möglich, wenn keine automatische Datenauswertung vorhanden ist. Die Kalibratoren sind auf eine Probenverdünnung von 1 zu 200 ausgerichtet.

1. Cpm-Mittelwert (MW) für jede Doppelbestimmung berechnen.
2. Kalibratorkurve auf Semilog- oder Loglinearpapier nach folgender Methode auftragen:
Berechnung von %B/T:

$$\%B/Bo = \frac{\text{cpm (Probe)} - \text{cpm (NSB)}}{\text{cpm (Kalibrator A)} - \text{cpm (NSB)}} \times 100$$

3. %B/Bo in die Y-Achse gegen die entsprechenden Kalibratorkonzentrationen auftragen.
4. Probenergebnisse direkt aus der Kalibratorkurve in µg/ml ablesen.

BERECHNUNGSBEISPIEL

ID	cpm-MW	%B/Bo	IGBP-3 (mg/mL)
TA	7019		
NSB	113		
0	3311	100.0	
1	2798	84.0	
4	1798	52.7	
10	1123	31.6	
20	710	18.7	
60	413	9.4	
Probe 1	951	26.1	12.9
Probe 2	2087	61.7	2.9

STANDARDISIERUNG

Die in diesem Kit enthaltenen Kalibratoren sind gegen hoch gereinigtes IGFBP-3 standardisiert.

GRENZEN DES VERFAHRENS

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

Proben, die eine merkliche Hintergrundradioaktivität besitzen, sollten nicht verwendet werden. Jede Probe mit entsprechendem Verdacht sollte vor der Testdurchführung auf Radioaktivität geprüft werden und solange gelagert werden, bis die Radioaktivität abgeklungen ist, oder es sollte eine neue Probe angefordert werden.

ZU ERWARTENDE 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:

Gesunde Erwachsene	1,7 - 4,0 µg/ml
Mittelwert	2,7 µg/ml
(n=103)	

TESTCHARAKTERISTIKA

Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW ± 2SD (µg/ml)	%CV
1	10	4,0 ± 0,4	4,7
2	10	1,6 ± 0,2	6,0
3	10	3,9 ± 0,3	3,7
4	10	7,3 ± 0,4	2,6

n = verdünnte Aliquots

Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW ± 2SD (µg/ml)	%CV
1	9	3,9 ± 0,2	6,1
2	9	1,4 ± 0,1	6,9
3	9	3,9 ± 0,3	8,5
4	9	6,8 ± 0,3	4,9

n = verdünnte Aliquots, * Doppelbestimmungen

Spezifität

Analyt	Konzentration Gemessen	Scheinbares IGFBP-3 Ergebnis
Human GH	50 ng/ml	nicht nachweisbar
IGF-I	22 ng/ml	nicht nachweisbar

Richtigkeit - Wiederfindung

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

Probe	IGFBP-3 (µg/ml) Gemessen	IGFBP-3 (µg/ml) Erwartet	% Wiederfindung
1	6,52	6,84	95,3
2	5,66	5,68	99,6
3	6,86	6,92	99,1

Richtigkeit - Verdünnung

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

Probe	IGFBP-3 (µg/mL) Gemessen	IGFBP-3 (µg/mL) Erwartet	% Wiederfindung
1/50	24,73	24,73	100,0
1/100	12,75	12,36	103,2
1/200	5,77	6,18	93,4
1/400	2,81	3,09	90,9
1/800	1,52	1,55	98,1

Sensitivität

Die Nachweisgrenze dieses Assays, definiert als die IGFBP-3 Konzentration, die dem cpm-Mittelwert von 9 Bestimmungen des Nullstandards minus 2 Standardabweichungen entspricht, ist 0,7 µg/ml, was einer tatsächlichen Konzentration von ca. 3,5 ng/ml entspricht.

Interferenzen

Es wurden keine Interferenzen bei einer Hämoglobinkonzentrationen bis zu 250 mg/dl, Bilirubin bis 10 mg/dl und Triglyzeriden bis 970 mg/dl beobachtet.

BESTELLINFORMATION

Der IGFBP-3 RIA wird hergestellt durch:

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