



# KIT IGFBP-3 RIA

REF 10 095100

Σ 100

ITALIANO



## GARANZIA

Il fabbricante non emette alcuna esplicita garanzia per il kit diagnostico tranne che per la sua capacità di misurare l'analita scelto, a condizione che si seguano le istruzioni scritte fornite dal fabbricante stesso. L'uso del kit diagnostico a qualsiasi altro titolo esula dall'impiego previsto per il prodotto ed è a rischio e pericolo dell'utente.

Il fabbricante declina ogni tipo di garanzia implicita di commerciabilità, convenienza d'uso o utilità presunta a qualsiasi altro titolo. Qualsiasi indennizzo dovuto a un mancato funzionamento o errore del kit diagnostico usato conformemente alle istruzioni si limita al valore di sostituzione del kit. La sola responsabilità di Bioclone Australia Pty Limited e dei suoi distributori si limita alla sostituzione del prodotto oppure al rimborso della spesa d'acquisto. Bioclone Australia Pty Limited non è responsabile per danni materiali, lesioni personali o perdite di natura economica causati dai suoi prodotti.

Prodotto da Bioclone Australia Pty Limited

(società affiliata a Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071

71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIA 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



Hitachi Chemical Diagnostics Inc.

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

## IMPIEGO PREVISTO

Il kit IGFBP-3 RIA è stato creato per la misurazione diagnostica quantitativa *in vitro* delle IGFBP-3 (Insulin-like growth factor binding protein-3 o proteine leganti del fattore di crescita insulino-simile di tipo 3) nel siero o nel plasma.

## PRINCIPI DEL RIA

Il RIA è un test immunoradiometrico a doppio anticorpo. L'analita compete con l'anticorpo tracciante marcato con iodio <sup>125</sup>I legandosi a una quantità costante di anticorpo.

Un secondo anticorpo/PEG complex è usato per separare l'anticorpo legato dall'anticorpo tracciante libero marcato con iodio <sup>125</sup>I. Dopo la centrifugazione, il sopranatante viene scartato e il pellet contenente la radioattività legata è misurato con un contatore gamma. La concentrazione dell'analita è inversamente proporzionale alla radioattività legata nel pellet. I conteggi dei calibratori vengono messi in grafico e i valori dei campioni vengono letti sulla curva di calibrazione così costruita.

## REAGENTI FORNITI, STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Dimensioni del kit - 100 test. Il kit e tutti i suoi componenti, nuovi o già avviati, devono essere conservati a 2-8°C fino alle date di scadenza indicate.

## IGFBP-3: Tracciante

**1 flacone REF # BPI1**  
11 ml di IGF-I marcato con <sup>125</sup>I legato in modo covalente alle IGFBP-3 (1 μCi) in tampone BSA PBS contenente un colorante rosso. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Pronto per l'uso.

## IGFBP-3: Antisiero

**1 flacone REF # BPA1**  
11 ml contenenti antisiero di coniglio anti-IGFBP-3 diluito in tampone BSA PBS e un colorante blu. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Pronto per l'uso.

## Reagente di precipitazione

**1 flacone REF # SME1**  
53 ml contenenti siero animale e polietilenglicolo in tampone BSA PBS. Contiene Bronidox L 0.25% v/v.

Mescolare accuratamente prima dell'uso.

## IGFBP-3: Calibratori

**1 flaconi REF # BPS1**  
50 ml ognuno di Calibratore A (0 μg/ml concentrato), contenente una soluzione 4 x concentrata di tampone BSA PBS. Contiene sodio azide 0.4% p/v. Da diluire prima dell'uso.

**5 flaconi REF # BPS2-6**

1.0 ml ognuno dei Calibratori B-F in tampone BSA PBS. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Liofilizzato.

## IGFBP-3: Controlli

**2 flaconi REF # BPC1-2**  
1.0 ml ognuno in tampone BSA PBS. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Liofilizzato.

**Non diluire.**

## PRECAUZIONI E AVVERTENZE PER GLI UTILIZZATORI

Il trattamento dei campioni e dei componenti del kit, il loro uso, la conservazione e l'eliminazione devono essere effettuati secondo le norme e procedure per la sicurezza di laboratorio locali o nazionali.

### Campioni e calibratori

Il materiale originale dei calibratori è stato sottoposto a test con un metodo approvato e accreditato per verificare l'eventuale presenza dell'antigene di superficie dell'epatite B, dell'anticorpo dell'epatite C e dell'anticorpo HIV - 1/2 (AIDS): è risultato non reattivo per nessuno di essi. Tuttavia, si raccomanda di maneggiare tutti i campioni come se potessero trasmettere malattie infettive.

### Conservanti

Il kit contiene sodio azide e Bronidox L come conservanti. Siccome i reagenti contengono un conservante potenzialmente tossico, bisogna prestare attenzione, maneggiandoli, ad evitare ingestione o contatto con la pelle. Il sodio azide può reagire con il piombo e le tubature di rame formando azidi potenzialmente esplosive.

### Materiale radioattivo

Il tracciante contiene materiale radioattivo.

## RACCOLTA E MANEGGIO DEI CAMPIONI

Non è richiesta alcuna preparazione speciale del paziente. I campioni possono essere di siero o plasma, raccolti in modo appropriato per l'analisi di laboratorio. Il siero è preferibile, comunque gli anticoagulanti eparina o EDTA possono essere impiegati senza sacrificarne l'accuratezza. Evitare campioni con eccesso emolitico, lipemico o torbidi. I campioni possono essere conservati a 2-8°C fino a 48 ore. Per periodi più lunghi, i campioni devono essere conservati a una temperatura di -20°C o inferiore. Non congelare e scongelare ripetutamente i campioni. Verificare nei campioni scongelati la presenza di materia flocculenta e mescolarli per inversione subito prima del test. I campioni torbidi o contenenti particolati devono essere centrifugati prima dell'uso.

## MATERIALI E STRUMENTI NECESSARI MA NON FORNITI

- \* Acqua distillata e deionizzata
- \* Provette di plastica monouso per analisi con tappi 12 x 75 mm
- \* Pipette di precisione
- \* Pipette a ripetizione tubo graduato da 100 ml
- \* Agitatore Vortex
- \* Timer
- \* Centrifuga refrigerata con una capacità di 2000 x g
- \* Carta assorbente
- \* Contatore gamma

## NOTE DI PROCEDURA

Portare tutti i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolarli delicatamente per inversione. Si raccomanda di operare in duplicato.

La contaminazione dei reagenti porta a prestazioni scadenti.

Si dovrebbe realizzare una curva di calibrazione per ogni test.

Tutti i passi del test devono essere eseguiti senza interruzione.

I reagenti sono bilanciati in ogni kit, quindi non si devono mescolare reagenti di lotti diversi.

Prima dell'uso bisogna calibrare adeguatamente il contatore gamma e tutte le pipette da utilizzare.

Se la centrifuga non raggiunge

almeno i 2000 x g, ne può risultare un pellet instabile. In questo caso si deve aumentare il tempo di centrifugazione.

### Controllo di qualità

Per assicurare una corretta procedura è bene effettuare un controllo degli specimen ad ogni test. Per approvare il test, i valori di controllo devono situarsi nei range di laboratorio.

## PROCEDURA DI ANALISI

### Preparazione dei Reagenti

#### Reagente di precipitazione

Mescolare accuratamente prima dell'uso.

#### Calibratori e Controlli

Per ricostituire i calibratori liofilizzati, aggiungere il volume di acqua deionizzata indicato sull'etichetta di ogni flacone. Lasciare fermi i flaconi fino alla completa dissoluzione (almeno 30 minuti) e poi mescolarli delicatamente per inversione. Le concentrazioni esatte determinate per ogni lotto sono riportate su un'etichetta separata all'interno del kit. Dopo la ricostituzione i calibratori e i controlli devono essere conservati a -20°C.

#### Procedura di diluizione

##### Calibratore A

##### 0 μg/ml concentrato

Diluire 1 a 4 il calibratore A con acqua deionizzata. Se il calibratore A è cristallizzato, riscaldarlo a 37°C. Allora si può usare la soluzione del calibratore A come diluente del campione e si può conservare a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata.

##### Preparazione del campione

I campioni (non i calibratori/controlli) devono essere diluiti 1:199. I campioni scarsi possono essere diluiti 1:99 e questi valori vanno divisi per 2 quando si calcolano i valori del siero.

1. Etichettare le provette di diluizione (1 per campione)
- 2a. Per 1:99 - Pipettare 10 μl di campione, aggiungere 0.99 ml di diluente 0 μg/ml
- b. Per 1:199 - Pipettare 10 μl di campione, aggiungere 1.99 ml di diluente 0 μg/ml.
3. Agitare.

## Protocollo

- Operando in duplicato, disporre e contrassegnare le provette in base al numero di test da effettuare. Includere i Conteggi Totali (TC), il legame non specifico (Non-Specific Binding - NSB), i calibratori, i controlli e i campioni diluiti.
- Pipettare 200 µl di diluente del calibratore 0 µg/ml in duplicato nelle provette NSB.
- Pipettare 100 µl di campione (calibratore, controllo, specimen diluito) in duplicato nelle provette appropriate.
- Pipettare 100 µl di antisiero anti-IGFBP-3 (blu) in tutte le provette tranne quelle NSB e TC.
- Pipettare 100 µl di tracciante IGFBP-3 (rosso) in tutte le provette.
- Agitare le provette con delicatezza e incubare per una notte a temperatura ambiente (20-25°C, 16-24 ore). Tutte le provette devono essere violacee tranne quelle NSB e TC.
- Alla fine del periodo di incubazione, pipettare 500 µl di reagente di precipitazione accuratamente mescolato in tutte le provette, tranne quelle TC, e agitare. Mettere da parte le provette TC e incubare per 15 minuti a temperatura ambiente (20-25°C).
- Centrifugare tutte le provette per 20 minuti a 2000 x g in una centrifuga refrigerata (4°C).
- Immediatamente dopo la centrifugazione, togliere completamente il soprannatante. Picchiettare leggermente le provette su carta assorbente e asciugarne i bordi per rimuovere tutti i residui di soprannatante.
- Misurare le provette per un minuto usando un contatore gamma. Una misurazione più protratta ridurrà l'errore statistico di misurazione. Annotare i cpm di ogni provetta.
- Calcolare i risultati.

## CALCOLO DEI RISULTATI

Il calcolo dei risultati può essere effettuato manualmente se non si dispone di programmi di analisi dei dati. I calibratori sono costituiti per permettere una diluizione del campione di 1:199.

- Determinare il cpm (count per minute) medio per le provette duplicate.
- Tracciare la curva di calibrazione su carta semi-logaritmica o logaritmica usando il metodo seguente:

Usare la formula seguente per calcolare la %B/T:

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

- Tracciare la %B/Bo sull'asse y mentre su quello x si trovano le concentrazioni dei calibratori.
- Leggere i valori dei campioni direttamente dalla curva di calibrazione, come µg/ml.

## ESEMPIO DI CALCOLI

ID	cpm medio	%B/Bo	IGFBP-3 (µg/ml)
TC	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	
Campione 1	951	26.1	12.9
Campione 2	2087	61.7	2.9

## CALIBRAZIONE

I calibratori forniti in questo kit sono calibrati in IGFBP-3 altamente purificate.

## LIMITAZIONI

I campioni di siero che mostrano un'importante emolisi, lipemia o torbidità possono dare risultati errati.

I campioni che contengono una valutabile radioattività di fondo non devono essere usati. Si deve controllare la radioattività di qualsiasi campione sospetto prima di effettuare l'analisi e, in caso di presenza, il campione deve essere tenuto da parte fino a decadimento della radioattività, oppure si deve richiedere un nuovo campione.

## VALORI ATTESI

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca una propria scala di riferimento basata su un campione di popolazione rappresentativo. Il seguente range di riferimento è stato ottenuto analizzando campioni di siero provenienti da individui sani ed è fornito solo come guida:

Adulti normali	1.7 - 4.0 µg/ml
Media	2.7 µg/ml
(n=103)	

## PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

### Precisione entro la serie

Campione	n	Media ± 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=aliquote diluite

### Precisione fra le serie

Campione	n *	Media ± 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=aliquote diluite, \* in duplicato

### Specificità

Analita	Concentrazione misurata*	IGFBP-3 apparente risultato
GH umano	50 ng/ml	non rilevabile
IGF-I	22 ng/ml	non rilevabile

### Accuratezza

Il recupero è stato calcolato prima e dopo l'aggiunta di analita esogeno.

Campione	IGFBP-3 (µg/ml) misurato	IGFBP-3 (µg/ml) atteso	% Recupero
1	6.52	6.84	95.3
2	5.66	5.68	99.6
3	6.86	6.92	99.1

### Diluizione

Un campione è stato diluito nel calibratore zero, poi testato, quindi se ne è calcolato il recupero.

Campione	IGFBP-3 (µg/ml) misurato	IGFBP-3 (µg/ml) atteso	% Recupero
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

### Sensibilità

La sensibilità, definita come quella concentrazione di analita che corrisponde a un segnale strumentale il quale disti due deviazioni standard dalla media della DO del legame zero (misurata in 9 prove), è 0.7 µg/ml. In base all'attuale concentrazione di IGFBP-3, la sensibilità è 3.5 ng/ml.

### Interferenza

Non si è osservata alcuna interferenza con il recupero dell'analita con concentrazioni di emoglobina superiori a 250 mg/dl, bilirubina superiore a 10 mg/dl e trigliceridi superiori a 970 mg/dl.

## INFORMAZIONI PER LE ORDINAZIONI

Il IGFBP-3 RIA è prodotto da:

Bioclone Australia Pty Limited,  
71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIA.  
Telefono +61 (0) 2 9517 1966 Numero Verde 1800 251 138  
Fax +61 (0) 2 9517 2990  
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

### ASSISTENZA TECNICA

L'assistenza tecnica è disponibile chiamando Bioclone al +61 (0) 2 9517 1966 o al Numero Verde 1800 251 138

PART No.: KBBPI Ed 8

Data di revisione: 13 Giugno 2008