



Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

TABLE OF CONTENTS

English	2	Slovenčina (SK)	26
Français (FR)	5	한국어 (KO)	29
Deutsch (DE)	8	Türkçe (TR)	32
Italiano (IT)	11	Русский (RU)	35
Español (ES)	14	中文 (ZH-TW)	38
Magyar (HU)	17	APPENDIX	40
Polski (PL)	20	REFERENCES	43
Čeština (CZ)	23		

IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, 捷克共和國

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.

Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, Czech Republic

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

IMMUNORADIOMETRIC KIT FOR THE QUANTITATIVE MEASUREMENT OF IGFBP-3 IN HUMAN SERUM THIS ASSAY IS INTENDED FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE

PRINCIPLE

The two-site immunoradiometric assay (IRMA) of Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3) is a sandwich-type assay [1]. In the kit, goat polyclonal antibody is used. Samples or calibrators are incubated in tubes pre-coated with polyclonal antibody, with 125I-labeled polyclonal antibody. After incubation, unbound reagents are removed by washing the tubes. The amount of 125I-labeled anti-IGFBP-3 bound to the tube is directly proportional to the concentration of IGFBP-3 present in the sample. A standard curve is constructed and unknown IGFBP-3 values are obtained from the curve by interpolation.

For Summary and Explanation of the Test see APPENDIX.

WARNING AND PRECAUTIONS

General remarks:

- For *in vitro* diagnostic use.
- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid evaporation.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- Do not use any component beyond the expiration date shown on its label.
- A standard curve must be established with each assay.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Calibrators and controls should be mixed before use by inverting or swirling gently rather than vortexing.

Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material are subject to the regulations of the country of use. Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
- No pipeting by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and lab coat.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate location, away from corridors and other busy areas.
- Radioactive materials should be stored in the container provided in a designated area.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.

Sodium azide

Some reagents contain sodium azide as preservative. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal of liquids, flush with a large volume of water to prevent azide build-up [2].

Materials of human origin

All serum samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS and waste should be discarded according to the country rules.

The Materials Safety Data Sheet (MSDS) is available upon request.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Calibrators/Controls

WARNING



H317

May cause an allergic skin reaction.

H412

Harmful to aquatic life with long lasting effects.

P273

Avoid release to the environment.

P280

Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.

P333+P313

If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

P362+P364

Take off contaminated clothing and wash it before use.

reaction mass of:
5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC# 247-500-7] and
2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC# 220-239-6](3:1)
<0.05%

SDS

Safety Data Sheet is available at techdocs.beckmancoulter.com

SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

- Serum is the recommended sample type. Do not use heparinized or EDTA plasma.
- Allow serum samples to clot completely before centrifugation.
- Undiluted samples may be stored at 2-8°C for up to 48 hours or at <-20°C for up to 8 weeks, after aliquoting so as to avoid repeated freezing and thawing. Samples which have been diluted for the assay (see Procedure) may be stored at 2-8°C for up to 24 hours or at <-20°C for up to 4 weeks. Thawing of sample should be performed at room temperature.
- Typical serum samples should be diluted 1:100 with the IGFBP-3 zero calibrator prior to assay. Samples with very low known or expected values should be diluted 1:50 with IGFBP-3 zero calibrator prior to assay.
- Any sample reading greater than the highest calibrator should be further diluted appropriately with the IGFBP-3 zero calibrator and reassayed.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).

To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS PROVIDED

All reagents in the kit are stable until the expiration date indicated on the kit label, when stored at 2-8°C. Expiry dates printed on vial labels apply to the long-term storage of components by the manufacturer only, prior to assembly of the kit. Do not take into account.

Storage conditions for reconstituted reagents are indicated in appropriate paragraphs.

Anti-IGFBP-3 antibody coated tubes: 2 x 50 tubes (ready-to-use)

Plastic tubes with goat-anti IGFBP-3 polyclonal immunoglobulin immobilized to the inside wall of each tube.

125I-labeled anti-IGFBP-3 tracer (YELLOW): one 22 mL vial (ready-to-use)

At the time of manufacture, the vial contains 370 kBq, (<10 µCi) of 125I-labeled goat-anti-IGFBP-3 polyclonal antibody in buffer with proteins (BSA), sodium azide (<0.1%) and a dye.

Calibrators: one 55 mL bottle labeled 0 (ready-to-use) and five vials labeled 1-5 (lyophilized)

The calibrator vials contain from 0 to approximately 100 ng/mL of IGFBP-3 in buffer with proteins (BSA) and ProClin 300. The exact concentration is indicated on each vial label. Calibrators are verified to an internal reference standard. The volume for reconstitution is indicated on the vial label. After reconstitution, calibrators may be stored at 2-8°C for up to 48 hours or at < -20°C for up to 2 weeks. Longer storage periods are not recommended.

Zero calibrator may be ordered separately, too (cat. #A99225)

Controls: two vials labeled 1, 2 (lyophilized)

The vials contain IGFBP-3 in buffer with proteins (BSA) and ProClin 300. The volume for reconstitution is indicated on the vial label, the concentration range after reconstitution is given on a supplement. After reconstitution, controls may be stored at 2-8°C for up to 48 hours or at < -20°C for up to 2 weeks. Longer storage periods are not recommended.

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- 12 x 75 mm polystyrene uncoated test tubes.
- Test tube rack for 12 x 75 mm tubes.
- Precision micropipets (10 µL, 50 µL and 1.0 mL).
- Semi-automatic pipets (200 µL, 3.0 mL).
- Shaker capable of ≥ 180 rpm.
- Vortex type mixer.
- A sponge rack for decantation or similar device or aspiration system.
- Absorbent material for blotting tubes.
- Gamma counter set for 125 iodine.
- Log-log graph paper or computer with IRMA data analysis program.

PROCEDURE

Preparation of reagents

Let all the reagents come to room temperature and mix them thoroughly by gentle inversion before use.

Reconstitution of calibrators and controls

The content of the vials is reconstituted with the volume of distilled water indicated on the vial label. Wait for 10 min following reconstitution and mix gently to avoid foaming before dispensing.

Dilution of samples

Dilute human serum samples 1:100 with IGFBP-3 zero calibrator prior to assay. (example: 10 µL serum + 1.0 mL zero calibrator). Dilute human serum samples with known or expected very low concentrations of IGFBP-3 1:50 with zero calibrator prior to assay. (example: 10 µL serum + 500 µL zero calibrator).

Note: Do NOT dilute IGFBP-3 Controls or Calibrators. Do NOT multiply Control results by sample dilution factor.

Assay procedure

Bring all reagents to room temperature before pipeting.

Run Calibrators, Controls and patient samples in duplicate.

Step 1 Additions*	Step 2 Incubation	Step 3 Counting
Dilute human serum samples 1:100 with zero calibrator.	Incubate overnight (18-24 hours) at room temperature (18-25°C) on shaker set at ≥ 180 rpm.	Add 3.0 mL of distilled water to all tubes (except «total cpm» tubes), Aspirate or decant all tubes, (except «total cpm» tubes), by simultaneous inversion with a sponge rack into a radioactive waste receptacle.
To antibody coated tubes successively add:	Aspirate or decant all tubes, (except «total cpm» tubes), by simultaneous inversion with a sponge rack into a radioactive waste receptacle.	Repeat washing steps 2 more times (for a total of 3 wash steps).
50 µL of calibrator, control or sample, immediately add 200 µL of tracer.	Strike the tubes sharply on absorbent material to facilitate complete drainage and blot for 1-2 minutes.	Count bound cpm (B) and total cpm (T) for 1 minute.
Vortex gently.		

* Add 200 µL of tracer to 2 additional tubes to obtain total cpm.

RESULTS

Results are obtained from the standard curve by interpolation. The curve is used for the determination of IGFBP-3 concentrations in samples measured at the same time as the calibrators.

Standard curve

The results in the quality control department were calculated using *spline* curve fit with determined radioactivity ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) on the log vertical axis and analyte concentration of the calibrators on the log horizontal axis (ng/mL).

Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity: 146,587 cpm				
Calibrators	IGFBP-3 (ng/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	1,295	-	-
1	2.3	4,252	2.05	2,957
2	5.7	8,386	4.95	7,091
3	28.0	24,623	16.20	23,328
4	60.0	46,272	31.20	44,977
5	120.0	79,597	54.30	78,302

(Example of standard curve, do not use for calculation)

Samples

For each sample, locate the cpm or B/T value on the vertical axis and read off the corresponding analyte concentration on the horizontal axis.

Multiply sample results by dilution factor (eg. 100).

Results may be converted to nmol/L based on the molecular weight of the non-glycosylated reference standard (28.75 kDa). To convert concentrations from ng/mL to nmol/L, multiply results by 0.035.

EXPECTED VALUES

Each laboratory should establish its own reference ranges. The pediatric data in the following table were obtained for children with normal height and growth patterns.

Age (years)	N	Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Absolute range (ng/mL)
0 - 1	49	1,965	548	1,990	1,030 - 3,090
1 - 2	42	2,154	649	2,080	1,100 - 3,620
2 - 3	28	2,231	605	2,140	1,200 - 3,990
3 - 4	18	2,312	786	2,120	1,400 - 4,250
4 - 5	23	2,363	459	2,290	1,630 - 3,150
5 - 6	19	2,676	553	2,720	2,000 - 4,230
6 - 7	22	2,924	617	2,990	2,000 - 4,210

(For more details, see APPENDIX)

QUALITY CONTROL

Good laboratory practices imply that control samples be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These samples must be processed exactly in the same way as the assay samples, and it is recommended that their results be analyzed using appropriate statistical methods.

Failure to obtain the appropriate values for controls may indicate imprecise manipulations, improper sample handling, or deterioration of reagents. In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following e-mail address: imunochem@beckman.com

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(For more details, see the data sheet "APPENDIX")

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Sensitivity

Analytical sensitivity: 0.27 ng/mL

Functional sensitivity: 0.31 ng/mL

Specificity

1 µg/tube of the following peptide hormones gave concentrations of <3 ng/mL: hIGFBP-1 (purified, amniotic fluid), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Precision

Intra-assay

Samples were assayed 20 times in the same run. The coefficients of variation were ≤4.4%.

Inter-assay

Samples were assayed in duplicate in 15 different runs. The coefficients of variation were ≤13.5%.

Accuracy

Dilution test

Five serum samples were serially diluted with zero calibrator. The recovery percentages ranged from 82.3% to 120%.

Recovery test

Low-concentration serum samples were spiked with known quantities of IGFBP-3. The recovery percentages ranged from 80.1% to 116%.

Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator): 0.27 to approximately 100.0 ng/mL.

LIMITATIONS

- Failure to follow these instructions for use (IFU) may significantly affect results.
- Failure to blot tubes adequately following decantation may result in poor replication and spurious values.
- Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.
- Use of EDTA or heparinized plasma is not recommended.
Serum containing IGFBP-3 protease activity may contain immunoreactive IGFBP-3 fragments. Measurement of intact IGFBP-3 in these samples may require preliminary size-exclusion chromatography [3].
- Avoid repeated freezing and thawing of reagents or specimens.
- Do not use haemolyzed, icteric or lipemic samples.
- The possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays. Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

TROUSSE IMMUNORADIOMETRIQUE POUR LE DOSAGE QUANTITATIF DE L'INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR BINDING PROTEIN-3 (IGFBP-3) DANS LE SERUM HUMAIN CE DOSAGE A ETE CONÇU POUR UN USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

PRINCIPE

Le dosage immunoradiométrique de l'Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3) est un dosage de type sandwich [1]. La trousse utilise un anticorps polyclonal de chevre. Dans des tubes recouverts d'anticorps, les échantillons ou les calibrateurs sont incubés en présence d'anticorps marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés pour éliminer les anticorps marqués non fixés et la radioactivité liée est mesurée. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe calibrateur. La quantité de radioactivité est directement proportionnelle à la concentration de IGFBP-3 dans l'échantillon.

Pour Résumé et explication du test voir APPENDIX.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Précautions générales

- Pour un usage diagnostique *in vitro*.
- Les flacons de calibrateurs et contrôles devront être ouverts le moins longtemps possible pour empêcher l'évaporation.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- N'utilisez aucun des composants au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Avant leur emploi, standards et contrôles doivent être mélangés par inversion ou en les faisant tourbillonner doucement plutôt que par vortex.

Les règles de bases de la radio protection

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate.

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Pipetage à la bouche interdit.
- Éviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations [2].

Les produits d'origine humaine

Tous les échantillons de sérum doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA et les déchets doivent éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

La fiche de sécurité (MSDS) est disponible sur demande.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Calibrators/Controls

ATTENTION



H317

Peut provoquer une allergie cutanée.

H412

Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P273

Éviter le rejet dans l'environnement.

P280

Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.

P333+P313

En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : demander un avis médical/consulter un médecin.

P362+P364

Enlever les vêtements contaminés et les laver avant utilisation.
stabilisateur composé de 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° EC 247-500-7] avec du 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° EC 220-239-6] (3:1) <0,05 %

SDS

La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckmancoulter.com

PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif. Il n'est pas recommandé d'utiliser du plasma hépariné ou EDTA.
- Pour les sérums, laisser les échantillons coaguler complètement avant la centrifugation.
- Les échantillons sériques peuvent être conservés à 2-8 °C si le dosage est réalisé dans les 48 heures ou aliquotés à <- 20 °C ou moins pendant 8 semaines. Les échantillons ayant été dilués pour le dosage (voir la Procédure) peuvent être conservés entre 2-8 °C pendant 24 heures ou à -20 °C ou moins pendant 4 semaines. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante.
- Les échantillons de sérum caractéristiques devront être dilués au 1:100 dans le calibrateur zéro d'IGFBP-3 avant le dosage. Les échantillons avec des valeurs attendues très faibles devront être dilués au 1:50 dans le calibrateur zéro d'IGFBP-3 avant le dosage.
- Tout échantillon plus élevé que le plus haut calibrateur devra être dilué correctement avec du calibrateur zéro et redosé.

CONTENU

L'azoture de sodium, utilisé comme agent de conservation, peut réagir avec le métal des canalisations et former des composés explosifs. Voir le NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazards (8/16/76) (Bulletin de l'Institut national pour la santé et la sécurité au travail: Les dangers d'explosion des azotures (16/08/1976)).

Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azoture, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués.

L'élimination de l'azote de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATÉRIEL FOURNI

Tous les réactifs de la trousse conservés à 2-8 °C sont stables, jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Les dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousse. Ne pas en tenir compte.

Les conditions de conservation des réactifs après reconstitution, sont indiquées dans les paragraphes suivants.

Tubes revêtus d'anticorps anti-IGFBP-3 : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Tubes en plastique, avec des immunoglobulines polyclonales de chèvre anti-IGFBP-3 immobilisées sur la paroi interne de chaque tube.

Traceur anti-IGFBP-3 marqué à l'iode 125 (JAUNE) : 1 flacon de 22 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 370 kBq (<10 µCi), en début de lot, d'immunoglobulines marquées à l'iode 125 sous forme liquide avec des protéines, de l'azide de sodium (<0,1 %) et un colorant.

Calibrateurs : 1 bouteille de 55 mL marquée 0, (prêt à l'emploi) + 5 flacons marqués 1-5 (lyophilisés)

Les flacons de calibrateur contiennent entre 0 à environ 100 ng/mL de IGFBP-3 dans un tampon à base de protéines avec du ProClin 300. La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon. Les calibrateurs sont validés sur un standard interne de référence. Reconstituer le contenu des flacons avec le volume d'eau distillée indiqué sur l'étiquette du flacon. Après reconstitution conserver les calibrateurs à 2-8 °C au maximum 48 heures ou à -20 °C ou plus bas au maximum 14 jours. Il n'est pas recommandé de dépasser cette période.

«Zéro» calibrateur peuvent être également commandés séparément (réf. A99225).

Contrôles : 2 flacons, marqués 1, 2 (lyophilisés)

Les flacons contiennent de l'IGFBP-3, dans un tampon à base de protéines en présence de la ProClin 300. Reconstituer les contrôles avec le volume d'eau distillée indiqué sur l'étiquette du flacon. Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur le supplément. Après reconstitution conserver à 2-8 °C au maximum 48 heures ou à -20 °C ou plus bas au maximum 14 jours. Il n'est pas recommandé de dépasser cette période.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- tubes à essai en plastique de 12 x 75 mm pour activité total
- Support pour tubes à essai de 12 x 75 mm
- micropipette de précision (10 µL, 50 µL et 1,0 mL)
- pipette semi-automatique (200 µL, 3,0 mL)
- agitateur pouvant agiter à ≥ 180 rpm
- Mélangeur de type vortex.
- support en éponge ou appareil semblable pour décantation ou système d'aspiration.
- Matériel absorbant pour éponger les tubes
- Compteur gamma calibré pour l'iode 125.
- papier quadrillé log-log ou logiciel d'analyse de données IRMA

PROCÉDURE

Préparation des réactifs

Equilibrer les réactifs à température ambiante et mélanger avant usage en les inversant ou en les faisant tourbillonner doucement.

Reconstitution des calibrateurs et contrôles

Reconstituer le contenu des flacons avec le volume d'eau distillée indiqué sur l'étiquette du flacon. Attendre 10 minutes après reconstitution et agiter doucement avant de répartir dans les tubes.

Dilution des échantillons

Les échantillons devront être dilués au 1:100 dans le calibrateur zéro d'IGFBP-3 avant le dosage. (eg. 10 µL sérum+1,0 mL calibrateur zéro). Les échantillons avec des valeurs attendues très faibles devront être dilués au

1:50 dans le calibrateur zéro d'IGFBP-3 avant le dosage. (Exemple: 10 µL de sérum + 500 µL de calibrateur zéro d'IGFBP-3).

Note : Les contrôles ne devront pas être dilués avant le dosage et leurs résultats ne devront pas être multipliés par le facteur de dilution de l'échantillon.

Mode opératoire

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.

Les calibrateurs, contrôles et échantillons inconnus devront être dosés en deux exemplaires.

Etape 1 Addition *	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
<p>Diluer les échantillons sériques 1 :100 avec calibrateur zéro.</p> <p>Au fond des tubes revêtus, distribuer successivement :</p> <p>50 µL de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon, immédiatement 200 µL de traceur.</p> <p>Agiter doucement au Vortex.</p>	<p>Incuber à température ambiante (18 - 25 °C) pendant 18 à 24 heures dans un agitateur réglé sur ≥ 180 rpm.</p> <p>Aspirer ou décanter tous les tubes, par inversion simultanée avec une claie en éponge dans un récipient à déchets radioactifs. (sauf les 2 tubes «cpm totaux»).</p> <p>Frapper vigoureusement les tubes sur un buvard pour faciliter le drainage complet et laissez-les ensuite égoutter sur du buvard pendant au moins 1-2 minutes.</p>	<p>Laver tous les tubes en ajoutant 3,0 mL d'eau distillée, excepté les tubes d'activité totale. Aspirer ou décanter tous les tubes. (sauf les 2 tubes «cpm totaux»).</p> <p>Répéter l'étape de lavage deux fois pour arriver à un total de 3 lavages.</p> <p>Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.</p>

* Ajouter 200 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.

RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux d'IGFBP-3 de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

Courbe standard

Les résultats obtenus par le service chargé du contrôle de qualité ont été calculés en utilisant un ajustement de courbe *spline* avec $(cpm^{1_{cal}} - cpm^{1_{cal0}})$ sur l'axe log vertical et la concentration en analyte des calibrateurs sur l'axe log horizontal (ng/mL).

L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 146 587 cpm				
Calibrateurs	IGFBP-3 (ng/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	$cpm^{1_{cal}} - cpm^{1_{cal0}}$
0	0	1 295	-	-
1	2,3	4 252	2,05	2 957
2	5,7	8 386	4,95	7 091
3	28,0	24 623	16,20	23 328
4	60,0	46 272	31,20	44 977
5	120,0	79 597	54,30	78 302

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer les valeurs de cpm ou B/T sur l'axe vertical et lire la concentration de l'échantillon en analytes correspondante sur l'axe horizontal.

Multiplier les résultats des échantillons par le facteur de dilution (par ex. 100).

Les résultats peuvent être convertis en nmol/L par la formule suivante, qui est basée sur le poids moléculaire du standard de référence non-glycosylé (28.75 kDa) : $ng/mL \times 0,035 = nmol/L$.

VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les données ci-dessous et en Appendix proviennent d'études multi-centriques. Des données pédiatriques ont été obtenues sur des enfants ayant des tailles et des courbes de croissance normales.

Tranches d'âges	N	Moyenne (ng/mL)	DS (ng/mL)	Médian (ng/mL)	Gamme absolue (ng/mL)
0 - 1	49	1 965	548	1 990	1 030 - 3 090
1 - 2	42	2 154	649	2 080	1 100 - 3 620
2 - 3	28	2 231	605	2 140	1 200 - 3 990
3 - 4	18	2 312	786	2 120	1 400 - 4 250
4 - 5	23	2 363	459	2 290	1 630 - 3 150
5 - 6	19	2 676	553	2 720	2 000 - 4 230
6 - 7	22	2 924	617	2 990	2 000 - 4 210

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

L'obtention de valeurs inappropriées pour les contrôles peut indiquer des manipulations imprécises, des manutentions inexactes de l'échantillon ou la détérioration de réactifs. En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter: imunochem@beckman.com

PERFORMANCES DU DOSAGE

(Voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

Les données représentatives ne sont fournies qu'à titre d'illustration. Les performances obtenues dans les laboratoires individuels peuvent varier.

Sensibilité

Sensibilité analytique : 0,27 ng/mL

Sensibilité fonctionnelle : 0,31 ng/mL

Spécificité

1 µg/tube des hormones peptidiques suivantes a donné des concentrations de <3 ng/mL : hIGFBP-1 (purifié, liquide amniotique), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Précision

Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 20 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 4,4 %.

Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 15 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 13,5 %.

Exactitude

Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans le calibrateur zéro de la trousse. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 82,3 % et 120 %.

Epreuve de surcharge

Des quantités connues d'IGFBP-3 ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 80,1 % et 116 %.

Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 0,27 à environ 100 ng/mL.

LIMITES

- Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats.
- Si les tubes ne sont pas épongés correctement après la décantation, cela peut entraîner des valeurs fausses et des répétitions médiocres.
- Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données de tests additionnels et toute autre information appropriée.
- Il n'est pas recommandé d'utiliser du plasma hépariné ou EDTA.
Un sérum contenant une activité de la protéase de l'IGFBP-3 peut présenter des fragments IGFBP-3 immunoréactifs. La mesure de l'IGFBP-3 intacte dans ces trois échantillons peut nécessiter chromatographie d'exclusion [3].
- Évitez la congélation et la décongélation répétées des réactifs ou des échantillons.
- Ne pas utiliser de spécimens hémolysés, icteriques ou lipémiques.
- Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques. Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Évaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

IMMUNRADIOMETRISCHER ASSAY FÜR DIE QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR BINDING PROTEIN-3 (IGFBP-3) IN HUMANEM SERUM DIESER ASSAY IST ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT

PRINZIP

Der Immunradiometrische Assay für die Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3). Bestimmung basiert auf dem typischen "Sandwichprinzip" [1]. Das Kit verwendet ein polyklonaler Antikörper von Ziegen. Die Proben bzw. Kalibratoren werden in Anwesenheit eines 125I-markierten Antikörpers und eines an der Röhrchenwand immobilisierten Antikörpers inkubiert. Nach der Inkubation wird die Flüssigkeit abgesaugt, um die ungebundene Radioaktivität zu entfernen. Die gebundene Radioaktivität wird in einem Gamma-Counter gemessen. Unbekannte Probenwerte werden durch Interpolation aus der Standardkurve bestimmt. Die IGFBP-3-Konzentration in den Proben ist direkt proportional zur gebundenen Radioaktivität.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests siehe "APPENDIX"

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Allgemeinhinweise:

- *In-vitro*-Diagnostikum.
- Fläschchen mit Kalibratoren oder Kontrollen sollten nur kurz geöffnet werden um jegliche Verflüchtigung zu vermeiden.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Keine Komponenten nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Kalibrator- und Kontrolllösungen sollten vor der Verwendung durch vorsichtiges Umdrehen oder Schwenken und nicht mit Hilfe eines Vortex-Mixers gemischt werden.

Grundregeln der Handhabung von Radioaktivität

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Kein Pipettieren im Mund.
- Jeglicher Kontakt mit radioaktiven Materialien muss durch Tragen von Handschuhen und Laborkittel vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muss in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb und von anderen beschäftigten Bereichen abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien sollten in einem speziell gekennzeichneten Bereich gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metall-aziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden [2].

Bestandteile menschlichen Ursprungs

Alle Serumproben sollten als potentielle Überträger von Hepatitis und AIDS behandelt und Abfälle entsprechend den jeweiligen Länderbestimmungen entsorgt werden.

Ein entsprechendes Sicherheitsdatenblatt (MSDS) ist auf Anfrage erhältlich.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Calibrators/Controls

ACHTUNG



H317

Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

H412

P273

Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

P280

Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P333+P313

Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P362+P364

Kontaminierten Kleidungsstücke ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
Reaktionsmasse aus: 5-Chloro-2-Methyl-4-Isothiazolin-3-on [EC# 247-500-7] und 2-Methyl-4-Isothiazolin-3-on [EC# 220-239-6](3:1) <0,05 %

SDS

Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar.

PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

- Die Verwendung von Serum wird empfohlen. Kein EDTA oder Heparin-Plasma verwenden.
- Serumproben vor dem Zentrifugieren vollständig gerinnen lassen.
- Die Proben können bei 2-8 °C bis zu 48 Stunden bzw. aliquotiert und tiefgekühlt bei -20 °C oder darunter bis zu 8 Wochen gelagert werden. Proben, die für den Assay verdünnt wurden (siehe Durchführung) können bei 2-8 °C bis zu 24 Stunden bzw. bei -20 °C oder darunter bis zu 4 Wochen gelagert werden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.
- Normale Serumproben sollten vor dem Assay im Verhältnis 1:100 mit dem Nullkalibrator verdünnt werden. Proben mit sehr niedrigen erwarteten Werten sollten vor dem Assay im Verhältnis 1:50 mit Nullkalibrator verdünnt werden.
- Wenn die Konzentration der Proben über dem höchsten Kalibratorwert liegen müssen sie mit Nullkalibrator wieder verdünnt werden.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen eingehen. Siehe hierzu NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazards (das Bulletin bezüglich explosiver Säuren des US-amerikanischen Instituts für Sicherheit am Arbeitsplatz) (16.08.1976). Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung des unverdünnten Reagenzes mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Die Reagenzien sind bis zum Verfallsdatum verwendbar, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.

Lagerungskonditionen der rekonstituierten Reagenzien sind in den entsprechenden Paragraphen beschrieben.

Röhrchen mit anti-IGFBP-3-Antikörpern beschichtet: 2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

Kunststoffröhrchen mit Ziege-anti-IGFBP-3-Immunglobulin, das an die Innenseite der Röhrchen gebunden ist.

125I-markierter anti-IGFBP-3-Antikörper Tracer (GELB): eine 22 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält 370 kBq (<10 µCi), (am Tag der Herstellung) der 125I markierten anti-IGFBP-3-Antikörper (polyklonal) in Puffer mit Proteinen, Natriumazid (<0,1 %) und einen Farbstoff.

Kalibratoren: eine 55 mL Flasche (0) (gebrauchsfertig) und fünf Fläschchen (1-5) (lyophilisiert)

Die Kalibratorfläschchen enthalten IGFBP-3 von 0 bis ungefähr 100 ng/mL in Puffer mit Proteinen und ProClin 300. Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben. Die Kalibratoren wurden alle verifiziert an einem internen Referenzstandard. Der Inhalt der Fläschchen wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen destilliertem Wassers rekonstituieren. Die aufgelösten Kalibratoren können bei 2-8 °C für 48 Stunden bzw. bei -20 °C oder darunter bis zu zwei Wochen gelagert werden. Längere Lagerungszeiträume werden nicht empfohlen.

Nullkalibrator Lösung kann separat bestellt werden (Kat. No. A99225).

Kontrollen: zwei Fläschchen (1, 2) (lyophilisiert)

Die Fläschchen enthalten IGFBP-3 in Puffer mit Proteinen und ProClin 300. Der Konzentrationsbereich ist auf einer Packungsbeilage angegeben. Die Kontrollen 1-2 mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen destilliertem Wassers rekonstituieren. Die aufgelösten Kontrollen können bei 2-8 °C für 48 Stunden bzw. bei -20 °C oder darunter bis zu zwei Wochen gelagert werden. Längere Lagerungszeiträume werden nicht empfohlen.

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- 12 x 75 mm Kunststoffröhrchen zur Bestimmung der Totalaktivität
- Röhrchenständer für 12 x 75 mm Röhrchen
- Präzisionspipetten (10 µL, 50 µL und 1,0 mL).
- Halbautomatische Pipetten (200 µL und 3,0 mL).
Schüttler ≥ 180 rpm
- Vortex-Mixer.
- Dekantierständer oder Ähnliches oder Absaugsystem
- Saugfähiges Material zum Austropfen der Röhrchen
- Gamma-Counter für I-125.
- Log-logarithmisches Papier oder Computerprogramm zur IRMA-Datenanalyse.

DURCHFÜHRUNG

Reagenzienvorbereitung

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben und vor der Verwendung durch vorsichtiges Umdrehen gemischt werden.

Rekonstitution der Kalibratoren und Kontrollen

Der Inhalt der Fläschchen wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen destilliertem Wassers rekonstituieren. Nach dem Auflösen 10 Minuten warten und nur leicht Mischen, um jegliche Schaumbildung vor dem Pipettieren zu vermeiden.

Verdünnung den Proben

Humane Serumproben werden vor dem Assay im Verhältnis 1:100 mit dem Nullkalibrator verdünnt. (Beispiel: 10 µL Serum + 1,0 mL Nullkalibrator). Proben mit sehr niedrigen erwarteten Werten sollten vor dem Assay im Verhältnis 1:50 mit Nullkalibrator verdünnt werden. (Beispiel: 10 µL Serum + 500 µL Nullkalibrator).

HINWEIS: Die Kontrollen und Kalibratoren werden vor dem Assay nicht verdünnt und die Ergebnisse der Kontrollen werden NICHT mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert.

Testdurchführung

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben vor dem Pipettieren.

Kalibratoren, Kontrollen und Proben sollten als Doppelbestimmung durchgeführt werden.

Schritt 1 Zugabe *	Schritt 2 Inkubation	Schritt 3 Messung
Humane Serumproben 1:100 mit Nullkalibrator verdünnen. Zugabe zu den beschichteten Röhrchen (in dieser Reihenfolge): 50 µL Kalibrator, Kontrolle oder Probe, unverzüglich 200 µL Tracer. Vorsichtig schütteln.	Über Nacht (18–24 Stunden) bei Raumtemperatur (18 - 25 °C) auf einem Schüttler mit ≥180 rpm inkubieren. Alle Röhrchen (ausser „Totalaktivität“) durch Umdrehen des Dekantierständers in einen Behälter für radioaktiven Abfall dekantieren oder absaugen. Die Röhrchen auf einer saugfähigen Unterlage kräftig ausklopfen, damit diese völlig entleert werden. Mindestens 1 - 2 Minuten austropfen lassen.	Alle Röhrchen bis auf die Röhrchen zur Bestimmung der Totalaktivität mit je 3,0 mL destilliertem Wasser waschen. Röhrchen absaugen oder dekantieren und den Waschvorgang noch zweimal wiederholen, so dass insgesamt drei Waschvorgänge durchgeführt werden. Gebundene cpm (B) und Totalaktivität (T) 1 min zählen.

* Zusätzlich 2 Röhrchen mit 200 µL Tracer zur Bestimmung der Totalaktivität bestücken.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve durch Interpolation ermittelt. Die Kurve kann für die Bestimmung der IGFBP-3-Konzentration in den Proben dienen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

Standardkurve

Die Ergebnisse wurden in der Abteilung für Qualitätskontrolle anhand einer *Spline*-Kurvenanpassung mit Radioaktivitätsbestimmung ($cpm_{Kal} - cpm_{Kal0}$) auf der logarithmischen vertikalen Achse und der Analytkonzentration der Kalibratoren auf der logarithmischen horizontalen Achse berechnet (ng/mL).

Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

Totalaktivität: 146 587 cpm				
Kalibratoren	IGFBP-3 (ng/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	$cpm_{Kal} - cpm_{Kal0}$
0	0	1 295	-	-
1	2,3	4 252	2,05	2 957
2	5,7	8 386	4,95	7 091
3	28,0	24 623	16,20	23 328
4	60,0	46 272	31,20	44 977
5	120,0	79 597	54,30	78 302

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen)

Proben

Für jede Probe den cpm- oder B/T-Wert auf der vertikalen Achse ausfindig machen und die zugehörige Analytkonzentration auf der horizontalen Achse ablesen.

Probenergebnisse mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren (z. B. 100).

Die Ergebnisse können mit der folgenden Formel, die auf dem Molekulargewicht der nicht glykosylierten Standardlösung (28,75 kDa) basiert, in nmol/L umgerechnet werden: $ng/mL \times 0,035 = nmol/L$.

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte seinen eigenen Normalbereich festlegen. Die nachfolgenden Daten und die im Anhang wurden im Rahmen von Multicenter-Studien ermittelt. Die pädiatrischen Daten in der nachfolgenden Tabelle wurden bei normal großen Kindern mit normalen Wachstumskurven ermittelt.

Alter (Jahren)	N	Mittelwert (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Absoluter Bereich (ng/mL)
0 - 1	49	1 965	548	1 990	1 030 - 3 090
1 - 2	42	2 154	649	2 080	1 100 - 3 620
2 - 3	28	2 231	605	2 140	1 200 - 3 990
3 - 4	18	2 312	786	2 120	1 400 - 4 250
4 - 5	23	2 363	459	2 290	1 630 - 3 150
5 - 6	19	2 676	553	2 720	2 000 - 4 230
6 - 7	22	2 924	617	2 990	2 000 - 4 210

(Für mehr Details, siehe die Beilage "APPENDIX")

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Assay-Proben getestet werden, und die Analyse der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Wenn für die Kontrollen nicht die richtigen Werte ermittelt werden, kann dies auf ungenaues Arbeiten, unvorschriftsmäßigen Umgang mit den Proben oder Verfall der Reagenzien zurückzuführen sein. Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungsbeeinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder benutzen Sie die folgende e-mail: imunochem@beckman.com

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

(Für mehr Details, siehe die Beilage "APPENDIX").

Repräsentative Daten dienen nur der Veranschaulichung. Die in einzelnen Labors erzielten Leistungen können anders ausfallen.

Empfindlichkeit

Analytische Sensitivität: 0,27 ng/mL

Funktionelle Sensitivität: 0,31 ng/mL

Spezifität

1 µg/Röhrchen der nachstehenden Peptidhormone ergab Konzentrationen <3 ng/mL: hIGFBP-1 (gereinigt, Fruchtwasser), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Präzision

Intra-Assay

Proben wurden 20-fach im selben Ansatz getestet. Der Variationskoeffizient war ≤4,4 %.

Inter-assay

Proben wurden in 15 Ansätzen getestet. Der Variationskoeffizient war ≤13,5 %.

Genauigkeit

Verdünnungstest

Drei Serumproben wurden seriell mit Nullkalibrator verdünnt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 82,3 % und 120 %.

Wiederfindungstest

Serumproben mit niedrigen Konzentrationen wurden mit definierten IGFBP-3-Mengen vermischt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 80,1 % und 116 %.

Messbereich(von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator): 0,27 bis ungefähr 100 ng/mL.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen.
- Wenn die Röhrchen nach dem Dekantieren nicht ausreichend von noch vorhandener Flüssigkeit befreit werden, so kann dies ungenaue Doppelbestimmungen und falsche Messwerte zur Folge haben.
- Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.
- Die Verwendung von EDTA- oder Heparin-Plasma wird nicht empfohlen.
- Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, der Ergebnisse anderer Tests sowie weiterer vorliegender Informationen zu interpretieren [3].
- Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Proben oder Reagenzien sollte vermieden werden.
- Die Bestimmung kann mit hämolytischen, ikterischen oder lipemischen Proben nicht ausgeführt werden.
- Es besteht die Möglichkeit für eine Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (z.B. HAMA), die im Immunoassay stören. Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu prüfen.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

KIT IMMUNORADIOMETRICO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DI INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR BINDING PROTEIN-3 (IGFBP-3) IN SIERO UMANO QUESTO TEST È DESTINATO ALL'USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

PRINCIPIO

Questo kit per il dosaggio dell'Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3) IGFBP-3 utilizza un metodo immunoradiometrico tipo "sandwich" [1]. Nel kit è utilizzato l'anticorpo policlonale di capra. Campioni e calibratori vengono incubati in provette sensibilizzate con l'anticorpo in presenza di anticorpo marcato con 125I. Al termine dell'incubazione le provette vengono aspirate per rimuovere l'anticorpo marcato 125I non legato. La radioattività legata viene quindi misurata con un contatore gamma. Le concentrazioni di IGFBP-3 nei campioni vengono ricavate per interpolazione da unacurva standard. La concentrazione di IGFBP-3 nei campioni è direttamente proporzionale alla radioattività.

Sommario e spiegazione del test sono riportati in APPENDICE.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Considerazioni generali:

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- I flaconi di calibratori e controlli devono essere aperti il meno possibile per evitare l'evaporazione.
- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Non utilizzare i componenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Prima dell'uso, mescolare calibratori e controlli capovolgendoli o agitandoli delicatamente; non vortexarli.

Norme di radioprotezione

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

- Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.
- Non pipettare con la bocca.
- Evitare ogni contatto con i materiali radioattivi usando guanti e camice da laboratorio.
- Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere effettuate in un luogo appropriato, lontano da corridoi o altre aree affollate.
- Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate.
- Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo.
- Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.
- In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione.
- I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione.

Sodio azide

Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosivi. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi [2].

Materiale di origine umana

Manipolare tutti i campioni di sangue come potenziali fonti di infezioni. (Ad es. epatite o AIDS). I rifiuti devono essere smaltiti secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

La scheda di sicurezza del materiale (MSDS) è disponibile su richiesta.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Calibrators/Controls

ATTENZIONE



H317

Può provocare una reazione allergica cutanea.

H412

Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P273

Non disperdere nell'ambiente.

P280

Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.

P333+P313

In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

P362+P364

Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
massa di reazione di:
5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [n. CE 247-500-7] e
2-metil-4-isotiazolin-3-one [n. CE 220-239-6] (3:1)
<0,05%

SDS

La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere i campioni in provette senza anticoagulante. Si consiglia di non eseguire questo dosaggio su campioni di plasma.
- Lasciar coagulare completamente i campioni di siero prima della centrifugazione.
- Conservare i campioni non diluiti a 2-8 °C per un massimo di 48 ore o, suddivisi in aliquote, ad almeno -20 °C per 8 settimane. Conservare i campioni diluiti per il test (vedere Procedura) a 2-8 °C per non più di 24 ore o ad almeno -20 °C per un massimo di 4 settimane. Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.
- Diluire 1:100 i campioni di siero con il calibratore zero prima del test. Diluire 1:50 con il calibratore zero IGFBP-3 i campioni con valori attesi molto bassi prima del test.
- Diluire opportunamente con il calibratore zero IGFBP-3 i campioni con letture maggiori dello calibratore a concentrazione massima e rianalizzarli.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il NIOSH Bulletin: "Explosive Azide Hazard" (Bollettino NIOSH: Rischi di esplosione dovuti al sodio azide) (16/8/1976). Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere smaltito in conformità alle norme di legge locali applicabili.

MATERIALI FORNITI

I reattivi, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nel kit.

Le modalità di conservazione dei reattivi dopo ricostituzione sono riportate nel paragrafo corrispondente.

Provette sensibilizzate con anticorpo anti-IGFBP-3: 2 x 50 provette; (pronte per l'uso)

Provette di plastica, sensibilizzate con immunoglobulina di capra anti-IGFBP-3, adesa alla parete interna di ciascuna provetta.

Marcato anti-IGFBP-3-125I (GIALLO): un flacone da 22 mL; (pronto per l'uso)

Il flacone contiene meno di 370 kBq (<10 µCi), (alla data di marcatura) di anti-IGFBP-3-125I in tampone con proteine, sodio azide (<0,1%) e un colorante inerte.

Calibratori: un flacone da 55 mL (0) (pronto per l'uso) + 5 flaconi (1-5); (liofilizzati)

I flaconi contengono IGFBP-3 a concentrazioni comprese tra 0 e circa 100 ng/mL in tampone con proteine e ProClin 300. L'esatta concentrazione dei calibratori è riportata sulle etichette di ciascun flacone. Gli calibratori sono calibrati contro uno standard interno di riferimento. Ricostituire ciascun flacone (1-5) con il volume di acqua distillata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Dopo la ricostituzione, conservare a 2-8 °C per un massimo di 48 ore o ad almeno -20 °C per due settimane. Periodi di conservazione più lunghi non sono consigliati.

Calibratore zero può essere ordinato separatamente. (cat. #A99225).

Controlli: due flaconi (1, 2) (liofilizzati)

I flaconi contengono IGFBP-3 in tampone con proteine e ProClin 300. I valori attesi sono riportati sul foglio del controllo di qualità. Ricostituire ciascun flacone (1-2) con il volume di acqua distillata riportato sull'etichetta di flacone. Dopo la ricostituzione, conservare a 2-8 °C per un massimo di 48 ore o ad almeno -20 °C per due settimane. Periodi di conservazione più lunghi non sono consigliati.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- provette da 12 x 75 mm, in plastica
- portaprovette per provette da 12 x 75 mm
- micropipette di precisione (10 µL, 50 µL, 1,0 mL)
- pipette semi-automatiche (200 µL, 3,0 mL)
- agitatore (con una capacità di ≥ 180 rpm)
- Agitatore tipo vortex.
- rack o dispositivo simile per la decantazione o sistema di aspirazione
- materiale assorbente per tamponare le provette
- Contatore gamma programmato per leggere ¹²⁵I.
- carta log-logaritmica oppure software adatto all'analisi dei dati del dosaggio radioimmunologico

PROCEDURA

Preparazione dei reattivi

Equilibrare i reattivi a temperatura ambiente e mescolare le con cura.

Ricostituzione di calibratori e di controlli

Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume di acqua distillata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare per almeno 10 minuti e controllare la completa dissoluzione del liofilizzato invertendo più volte i flaconi.

Diluzione dei campioni

Diluire i campioni di siero umano 1:100 con il calibratore zero IGFBP-3 prima del test. Esempio: 10 µL di siero + 1,0 mL di calibratore zero IGFBP-3. Diluire 1:50 (esempio: 10 µL di siero + 500 µL di calibratore zero IGFBP-3) i campioni con valori attesi molto bassi.

Nota: non diluire i controlli prima del test e non moltiplicare i risultati dei controlli per il fattore di diluizione del campione.

Schema del dosaggio

Prima dell'uso lasciare equilibrare i reattivi a temperatura ambiente.

Analizzare calibratori, controlli e campioni sconosciuti in duplicato.

Fase 1 Dispensazione *	Fase 2 Incubazione	Fase 3 Conteggio
Diluire campioni 1:100 con calibratore zero.	Incubare a temperatura ambiente (18 - 25 °C) per una notte (18-24 ore) su un agitatore impostato sulla velocità di ≥180 rpm.	Lavare tutte le provette, eccetto quelle per le conte totali, aggiungendo 3,0 mL di acqua distillata.
Aggiungere in successione alle provette sensibilizzate:	Aspirare o fare decantare, eccetto provette per le conte totali, capovolgendo contemporaneamente il rack di decantazione in un recipiente per rifiuti radioattivi.	Aspirare o decantare e ripetere il lavaggio due volte, per un totale di tre lavaggi.
50 µL dei calibratori, controlli o campioni, subito dopo 200 µL di marcato.	Picchiare le provette con decisione su materiale assorbente e quindi asciugarle tamponandole per 1-2 minuti per rimuovere eventuali gocce adese al bordo.	Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 min.
Agitare al Vortex leggermente.		

* Aggiungere 200 µL di marcato a due provette supplementare per la determinazione dell'attività totale.

RISULTATI

Le concentrazioni di IGFBP-3 nei campioni e controlli vengono calcolati per interpolazione sulla curva standard. Dosare campioni e controlli assieme ai calibratori.

Curva standard

I risultati registrati dal reparto responsabile del controllo di qualità sono stati calcolati utilizzando l'adattamento della curva con metodo *spline* con radioattività determinata (cpm_{cal} - cpm_{cal0}) sull'asse verticale logaritmico e la concentrazione di analiti dei calibratori sull'asse orizzontale logaritmico (ng/mL).

Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

Attività totale: 146.587 cpm				
Calibratori	IGFBP-3 (ng/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	cpm _{cal} - cpm _{cal0}
0	0	1.295	-	-
1	2,3	4.252	2,05	2.957
2	5,7	8.386	4,95	7.091
3	28,0	24.623	16,20	23.328
4	60,0	46.272	31,20	44.977
5	120,0	79.597	54,30	78.302

(Esempio di curva standard. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

Campioni

Per ogni campione, individuare il cpm o il valore B/T sull'asse verticale e leggere la concentrazione dell'analita corrispondente sull'asse orizzontale espressa.

Moltiplicare i risultati dei campioni per fattore di diluizione (ad es. 100).

I risultati possono essere convertiti in nmol/L usando la formula seguente, che si basa sul peso molecolare dello standard di riferimento non glicosilato (28,75 kDa): $ng/mL \times 0,035 = nmol/L$.

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento per campioni provenienti da soggetti caratterizzati clinicamente. I dati riportati nella tabella seguente e in appendice sono stati ottenuti in studi multicentrici. I dati pediatrici riportati nelle tabelle seguenti sono stati ottenuti da bambini con parametri di crescita e altezza normali.

Età (anni)	N	Media (ng/mL)	SD (ng/mL)	Mediana (ng/mL)	Range assoluto (ng/mL)
0 - 1	49	1.965	548	1.990	1.030 - 3.090
1 - 2	42	2.154	649	2.080	1.100 - 3.620
2 - 3	28	2.231	605	2.140	1.200 - 3.990
3 - 4	18	2.312	786	2.120	1.400 - 4.250
4 - 5	23	2.363	459	2.290	1.630 - 3.150
5 - 6	19	2.676	553	2.720	2.000 - 4.230
6 - 7	22	2.924	617	2.990	2.000 - 4.210

(Ulteriori dati sono riportati in APPENDIX)

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente sieri di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

Il mancato ottenimento di valori appropriati per i controlli, può indicare manipolazioni errate, trattamento inappropriato dei campioni o deterioramento dei reagenti. Nel caso di deterioramento dell'imballaggio o nel caso in cui i dati ottenuti mostrino una diminuzione di performance del prodotto, si prega di contattare il distributore locale o di riferirsi all'indirizzo e-mail imunochem@beckman.com

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(Ulteriori dati sono riportati in "APPENDIX")

Vengono forniti dati rappresentativi a mero scopo illustrativo. I risultati possono variare da laboratorio a laboratorio.

Sensibilità

Sensibilità analitica: 0,27 ng/mL

Sensibilità funzionale: 0,31 ng/mL

Specificità

1 µg/provetta dei seguenti ormoni peptidici ha fornito concentrazioni di IGFBP-3 <3 ng/mL: hIGFBP-1 (liquido amniotico purificato), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Precisione

Intra-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati 20 volte in uno stesso esperimento. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 4,4% o inferiore.

Inter-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati in duplicato in 15 esperimenti differenti. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 13,5% o inferiore.

Accuratezza

Test di diluizione

Alcuni campioni ad alta concentrazione di IGFBP-3 sono stati diluiti serialmente con il calibratore zero. Il recupero è risultato essere compreso tra 82,3% e 120%.

Test di recupero

Ad alcuni campioni a bassa concentrazione di IGFBP-3 sono state aggiunte quantità note di IGFBP-3. Il recupero è risultato essere compreso tra 80,1% e 116%.

Campo di misura (è compreso tra la concentrazione pari alla sensibilità analitica e la concentrazione del calibratore più elevato): tra 0,27 e circa 100 ng/mL.

LIMITAZIONI

- Seguire fedelmente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti.
- Una non corretta asciugatura delle provette dopo la decantazione, può determinare risultati dei replicati inadeguati e valori non attendibili.
- I risultati devono essere interpretati in base alla valutazione clinica complessiva della paziente, che comprende la storia clinica, i dati ottenuti con altri test diagnostici o strumentali ed altre informazioni appropriate.
- Si sconsiglia l'uso di plasma eparinato o anticoagulato con EDTA.
Il siero contenente attività proteasica IGFBP-3 può contenere frammenti IGFBP-3 immuno reattivi. La misurazione di IGFBP-3 intatto in questi campioni può richiedere una preliminare cromatografia di esclusione dimensionale [3].
- Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento dei reagenti o dei campioni.
- Non usare campioni emolizzati, itterici o lipemici.
- Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi. Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

EQUIPO INMUNORADIOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL IGFBP-3 EN SUERO HUMANO ESTE ENSAYO ES PARA DIAGNÓSTICO “USO IN VITRO”

PRINCIPIO

El ensayo inmunoradiométrico de 2 sitios (IRMA) de IGFBP-3 (Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3) es un ensayo de tipo sandwich [1]. El equipo utiliza anticuerpo policlonal de cabra. Las muestras y los calibradores se incuban en tubos recubiertos con el anticuerpo policlonal en presencia del anticuerpo policlonal conjugado con 125I. Después de la incubación el reactivo no unido se remueve mediante el lavado de los tubos. La cantidad de 125I-anti-IGFBP-3 unida es directamente proporcional a la concentración del IGFBP-3 presente en la muestra. La concentración del IGFBP-3 presente en las muestras se obtiene por interpolación con una curva estándar.

Para RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO ver la página de “APENDICES”.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones generales

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Los frascos con los calibradores y controles deben abrirse el menor tiempo posible para evitar evaporación.
- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- No utilice ningún componente después de la fecha de caducidad indicada en su etiqueta.
- Incluir una curva estándar en cada ensayo.
- Se recomienda realizar el ensayo por duplicado.
- Los calibradores y controles deben mezclarse antes de su uso, para lo cual es mejor invertirlos o agitarlos suavemente en vez de vortexear (agitación fuerte).

Reglas básicas de seguridad radiológica

La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetas a las disposiciones legales del país en el que se utiliza. El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica proporciona protección adecuada.

- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
- No pipetear con la boca.
- Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
- Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.
- Los materiales radiactivos deben almacenarse en el contenedor aprobado en una zona especializada.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y material de vidrio de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.
- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.

Azida sódica


Algunos reactivos contienen azida sódica como conservante. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Es por ello que se recomienda realizar el desecho de todo material líquido juntamente con grandes cantidades de agua, evitando así la formación de las mismas [2].

Material de origen humano

Todas las muestras de suero deben ser manipuladas como si fueran susceptibles de contener virus como la hepatitis o el sida. Los desperdicios deben eliminarse según los reglamentos nacionales actuales.

La Hoja de Datos de Seguridad (MSDS) se encuentra disponible bajo requerimiento.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

Calibrators/Controls	ADVERTENCIA
	
H317	Puede provocar una reacción cutánea alérgica.
H412	Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
P273	No dispersar en el medio ambiente.
P280	Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.
P333+P313	En caso de irritación cutánea o sarpullido: consulte a un médico.
P362+P364	Quitar la ropa contaminada y lavarla antes de usarla. masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [EC# 247-500-7] y 2-metil-4-isotiazolina-3-ona [EC# 220-239-6] (3:1) <0,05 %

SDS

La hoja de datos de seguridad está disponible en techdocs.beckmancoulter.com

RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCION DE LAS MUESTRAS

- Recolectar las muestras en tubos secos sin aditivos. No utilice muestras plasmáticas con Heparina ó EDTA.
- Permitir que las muestras de suero se coagulen completamente antes de su centrifugado.
- Las muestras no diluidas pueden conservarse entre 2-8 °C durante un periodo máximo de 48 horas o a una temperatura < -20 °C durante un máximo de 8 semanas. Se recomienda el uso de alícuotas para así evitar congelamientos y descongelamientos sucesivos. Las muestras que hayan sido diluidas para el ensayo (ver Procedimiento) pueden conservarse entre 2-8 °C durante un periodo máximo de 24 horas o a una temperatura < -20 °C durante un periodo máximo de cuatro semanas. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.
- Las muestras típicas de suero deben diluirse en una proporción 1:100 con el calibrador CERO antes del ensayo. Las muestras con valores esperados muy bajos deberían diluirse en una proporción 1:50 con el calibrador CERO de IGFBP-3 previo al ensayo.
- Cualquier muestra que arroje un resultado superior al calibrador más alto debe ser diluida apropiadamente con el calibrador CERO y ser procesada nuevamente.

CONTENIDOS

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Consulte el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/08/1976). Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, limpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES PROPORCIONADOS

Todos los reactivos provistos-sin abrir- son estables entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo, la cual se indica en la etiqueta externa. Las fechas de caducidad impresas sobre las etiquetas de los frascos son válidas sólo para el fabricante, durante su almacenamiento a largo plazo hasta antes del ensamblaje del equipo. No tener en cuenta.

Las condiciones de almacenamiento para los reactivos reconstituidos se encuentran indicadas en los párrafos respectivos.

Tubos recubiertos con Anti IGFBP-3: 2 x 50 tubos (listos para usar).

Tubos de plástico con inmunoglobulina policlonal de cabra anti-IGFBP-3 inmovilizado en la cara interna de cada tubo.

Anticuerpo anti-IGFBP-3 marcado con 125I (AMARILLO): un frasco x 22 mL (listo para usar)

El frasco contiene 370 kBq (<10 µCi), el día de su elaboración, de anticuerpo policlonal de cabra anti-IGFBP-3 marcado con 125I en buffer proteico (BSA), azida sódica (<0,1 %) y un colorante.

Calibradores: 1 frasco x 55 mL rotulado 0 (listo para usar), + 5 frascos rotulados 1-5 (líoofilizados)

Los frascos contienen desde 0 hasta aproximadamente 100 ng/mL de IGFBP-3 en buffer proteico (BSA) y ProClin 300. La concentración exacta se indica en cada etiqueta. Los calibradores están verificados a través de un estándar de referencia interno. Reconstituir el contenido de los frascos 1-5 con el volumen de agua destilada señalado en la etiqueta. Una vez reconstituidos, conservarse entre 2-8 °C durante un periodo máximo de 48 horas o congelarse a una temperatura < -20 °C durante un periodo máximo de dos semanas. No se recomiendan periodos de conservación más prolongados.

El Calibrador Cero puede pedirse por separado (REF A99225).

Controles: 2 frascos, (rotulados 1, 2) (líoofilizados)

Los frascos contienen IGFBP-3 en buffer proteico (BSA) y ProClin 300. La concentración exacta se indica en la hoja anexa. Reconstituir el contenido de los frascos 1-2 con el volumen de agua destilada señalado en la etiqueta. Una vez reconstituidos conservarse entre 2-8 °C durante un periodo máximo de 48 horas o congelarse a una temperatura < -20 °C durante un periodo máximo de dos semanas. No se recomiendan periodos de conservación más prolongados.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Tubos de ensayo de plástico de 12 x 75 mm.
- Gradilla para tubos de ensayo de 12 x 75 mm
- Micropipetas de precisión (10 µL, 50 µL y 1,0 mL).
- Pipetas semiautomáticas (200 µL, 3,0 mL).
- Agitador (adecuado para ≥ 180 rpm)
- Agitador tipo vórtex.
- Gradilla - absorbente - para decantación o dispositivo similar o sistema de aspiración.
- Material absorbente para secado de los tubos
- Contador gamma calibrado para I125.
- Papel gráfico logarítmico - logarítmico o programa informático de análisis de datos de IRMA.

PROCEDIMIENTO

Preparación de los reactivos

Antes de su uso, permita que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente y mézclelos totalmente mediante una inversión suave.

Reconstitución de los calibradores y controles

Reconstituir el contenido de los frascos con el volumen de agua destilada señalado en la etiqueta. Una vez reconstituidos, esperar 10 minutos y agitar evitando la formación de espuma antes de dispensar la solución en los tubos.

Dilución de las muestras

Diluirse las muestras de suero en una proporción 1:100 con el calibrador CERO antes del ensayo. (Ejemplo: 10 µL suero + 1,0 mL calibrador CERO). Las muestras con valores esperados muy bajos deberían diluirse en una proporción 1:50 con el calibrador CERO de IGFBP-3 previo al ensayo. (Ejemplo: 10 µL suero + 500 µL calibrador CERO).

Nota: no se deben diluir los calibradores y controles antes del ensayo, y los resultados de los controles no se deben multiplicar por el factor de dilución de la muestra.

Procedimiento del ensayo

Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.

Los calibradores, controles y muestras de concentración desconocida deben ser procesados en el ensayo por duplicado.

Paso 1 Adición	Paso 2 Incubación	Paso 3 Contaje
Diluya las muestras séricas humanas en una proporción 1:100 con el calibrador cero.	Incubar 18-24 horas en un agitador programado a ≥ 180 rpm a temperatura ambiente (18 - 25 °C).	Agregue 3,0 mL de agua destilada a todos los tubos (excepto los tubos de cuentas totales). Aspirar o decante todos los tubos,(excepto los tubos de cuentas totales), mediante inversión simultánea con una gradilla absorbente dentro del dispositivo especial de recolección de residuos líquidos radiactivos.
Agregue en el fondo de los tubos rotulados lo siguiente:	Aspire ó decante todos los tubos, (excepto los tubos de cuentas totales), mediante inversión simultánea con una gradilla absorbente-ó dispositivo similar- para decantación, volcando el contenido radiactivo dentro del dispositivo especial de recolección de residuos líquidos radiactivos.	Repita el paso de lavado 2 veces más (con un total de 3 pasos de lavado).
50 µL de calibradores, controles ó muestras, e inmediatamente después 200 µL de trazador.	Golpée los tubos firmemente sobre un material absorbente para facilitar el drenaje completo y el secado durante 1-2 minutos.	Determine con un contador gamma, las cpm unidas (B) y las cpm totales (T) durante 1 min.
Agítelos suavemente en el mezclador de vórtex.		

* Añadir 200 µL de trazador en 2 tubos suplementarios para obtener las cpm totales.

RESULTADOS

Los resultados se obtienen por interpolación con la curva estándar. La curva sirve para la determinación de las concentraciones de la IGFBP-3 en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores.

Curva estándar

Los resultados del departamento de control de calidad se calcularon usando el ajuste de curva *spline* con radioactividad determinada ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) en el eje logarítmico vertical y la concentración de analitos de los calibradores en el eje logarítmico horizontal (ng/mL).

Otros métodos de reducción de datos pueden dar resultados ligeramente diferentes.

Actividad total: 146 587 cpm				
Calibradores	IGFBP-3 (ng/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	1295	-	-
1	2,3	4252	2,05	2957
2	5,7	8386	4,95	7091
3	28,0	24 623	16,20	23 328
4	60,0	46 272	31,20	44 977
5	120,0	79 597	54,30	78 302

(Ejemplo de curva estándar, no utilizar para los cálculos)

Muestras

En cada muestra, localice los cpm o el valor B/T del eje vertical y lea la concentración del analito correspondiente en el eje horizontal.

Multiplique los resultados de la muestra por el factor de dilución (p. ej., 100).

Se pueden convertir a nmol/L utilizando la siguiente fórmula, que se basa en el peso molecular del estándar de referencia no glicosilado (28.75 kDa): Para convertir las concentraciones de ng/mL a nmol/L, debe multiplicarse los resultados por 0.035.

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. Los datos que figuran a continuación y a Apéndice proceden de estudios multicéntricos. Los datos pediátricos de las tablas que se muestran a continuación se obtuvieron de niños con estaturas y patrones de crecimiento normales.

Edad (años)	N	Media (ng/mL)	DE (ng/mL)	Mediana (ng/mL)	Rango absoluto (ng/mL)
0 - 1	49	1965	548	1990	1030 - 3090
1 - 2	42	2154	649	2080	1100 - 3620
2 - 3	28	2231	605	2140	1200 - 3990
3 - 4	18	2312	786	2120	1400 - 4250
4 - 5	23	2363	459	2290	1630 - 3150
5 - 6	19	2676	553	2720	2000 - 4230
6 - 7	22	2924	617	2990	2000 - 4210

(Para mayores detalles ver la página de "APPENDIX")

CONTROL DE CALIDAD

Para la obtención de resultados óptimos se recomienda el uso de los controles en cada ensayo para asegurar la calidad de los resultados obtenidos. Dichos controles deben ser procesados de la misma manera que las muestras a analizar. Se recomienda que los resultados sean analizados utilizando los métodos estadísticos apropiados.

Fallas en la obtención de valores adecuados para los controles podría indicar manipulaciones imprecisas, mal manejo de las muestras, ó deterioro de los reactivos. En caso de deterioro del embalaje o si los resultados obtenidos muestran un desarrollo alterado, por favor, contacte su distribuidor local ó utilice la siguiente dirección de e-mail: imunochem@beckman.com

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

(Ver la hoja "APPENDIX" para más detalles)

Se facilitan datos representativos solo a modo de ejemplo. El rendimiento obtenido en los distintos laboratorios puede variar.

Sensibilidad

Sensibilidad Analítica: 0,27 ng/mL

Sensibilidad funcional: 0,31 ng/mL

Especificidad

1 µg/tubo de las siguientes hormonas peptídicas dio como resultado concentraciones <3 ng/mL: hIGFBP-1 (purificada, líquido amniótico), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Precisión

Intra- ensayo

Las muestras se evaluaron 20 veces en las mismas series. Los coeficientes de variación fueron ≤4,4 %.

Inter-análisis

Las muestras se evaluaron en duplicado en 15 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron ≤13,5 %.

Precisión

Prueba de dilución

Las muestras muy concentradas se diluyeron serialmente con el estándar cero. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron entre 82,3 % y 120 %.

Prueba de recuperación

A muestras de baja concentración se les agregó cantidades conocidas de IGFBP-3. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron entre 80,1 % y 116 %.

Rango de medida (desde la sensibilidad analítica hasta el calibrador más alto): 0.27 hasta aproximadamente 100 ng/mL.

LIMITACIONES

- Siga atentamente las instrucciones de uso ya que de lo contrario, los resultados pueden verse afectados significativamente.
- No proceder con el buen secado de los tubos después de la decantación, puede arrojar duplicados y/o resultados erróneos.
- Los resultados deberán ser interpretados como una ayuda dentro de la situación clínica del paciente, incluyendo la historia clínica, así como los datos provenientes de otras testas adicionales.
- No se recomienda la utilización de plasma heparinizado o con EDTA. Las muestras séricas con actividad proteásica de IGFBP-3 pueden contener fragmentos inmunorreactivos de IGFBP-3. Para la determinación de la IGFBP-3 intacta en estas muestras es posible que se necesite realizar previamente una cromatografía de exclusión por tamaño [3].
- Evite congelar y descongelar repetidamente los reactivos y las muestras.
- No utilice muestras hemolizadas, ictericas o lipémicas.
- Existe la posibilidad de interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado regularmente en contacto con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos. Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos. Evaluar cuidadosamente los resultados de pacientes en los cuales se sospeche que puedan tener esta clase de anticuerpos.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

IMMUNORADIOMETRIÁS KIT IGFBP-3 HUMÁN SZÉRUMBÓL TÖRTÉNŐ KVANTITATÍV MÉRÉSÉRE EZ AZ ASSAY IN VITRO DIAGNOSTIKAI HASZNÁLATRA KÉSZÜLT

MŰKÖDÉSI ELV

Az inzulinszerű növekedési faktor kötőfehérje-3 (Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3, IGFBP-3) tesztje egy "szendvics" típusú kétoldalas immunoradiometrikus assay (IRMA). [1]. A kitben kecske poliklonális antitest található. A szérumból mintákat, a vagy a kalibrátorokat az első poliklonális ellenanyaggal fedett csövekben inkubáljuk, a második, 125I-jelölt poliklonális ellenanyaggal fedett csövekben inkubáljuk, a második, 125I-jelölt poliklonális ellenanyaggal fedett csövekben inkubáljuk, a második, 125I-jelölt poliklonális ellenanyagot eltávolítjuk. A mintában levő IGFBP-3 koncentráció egyenesen arányos a csőfalhoz kötődött 125I-jelölt anti-IGFBP-3 mennyiségével. A standard görbe elkészítése után az ismeretlen IGFBP-3 koncentrációt a görbe interpolációjával határozzuk meg.

A teszt összefoglalását és magyarázatát a FÜGGELÉKBEN találja meg.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

Általános megjegyzések:

- *In vitro* diagnosztikai használatra.
- A kalibrátor és kontroll üvegeket olyan rövid ideig tartjuk nyitva, amennyire csak lehet, hogy a túlzott párolgást elkerüljük
- Ne keverjen össze különböző gyártási számú reagenseket.
- A címkén látható lejárati időn túl egyik összetevőt se használjuk fel.
- Minden vizsgálathoz készítsen standardgörbét.
- Ajánlott a vizsgálat során két párhuzamos mérést végezni.
- A kalibrátorokat és a kontrollokat össze kell keverni használat előtt forgatással vagy gyengédeli keveréssel vortexelés helyett.

Alapvető sugárzásbiztonsági szabályok

Radioaktív anyagok beszerzését, felhasználását és szállítását külön jogszabályok írják elő. Az alábbi alapvető szabályok betartása megfelelő védelmet biztosíthat:

- Radioaktív anyagok jelenlétében ne fogyasszon ételt, italt, ne dohányozzon és ne használjon kozmetikumokat.
- Ne pipettázzon szájjal.
- Kerülje a radioaktív anyagokkal történő érintkezést: viseljen kesztyűt és laboratóriumi köpenyt.
- Minden, radioaktív anyaggal végzett műveletet egy erre megfelelő, folyosóktól és más forgalmas területektől távol eső helyen kell elvégezni.
- A radioaktív reagenseket egy erre kijelölt helyen tartott edényben kell tárolni.
- A laboratóriumba érkezett radioaktív anyagok átvételéről és tárolásáról vezessen jegyzőkönyvet.
- Azokat a laboratóriumi eszközöket és üvegedényeket, amelyek radioaktív anyaggal szennyeződhetnek, különítse el, hogy elkerülje a különböző radioizotópokkal történő keresztszennyeződést.
- Sugárszennyeződés vagy radioaktív anyag kiömlése esetén tartsa be az erre vonatkozó előírásokat.
- A radioaktív hulladékot kezelje az adott országban érvényes szabályoknak megfelelően.

Nátrium azid

Néhány reagens nátrium-azidot tartalmaz konzerválószerként. A nátrium-azid ólom és réz vezetékkel reakcióba lépve rendkívül robbanékony fém-azidokat képezhet. A foyadékok kiöntésénél azokat nagy mennyiségű vízzel mossuk le az azid képződés elkerülése érdekében [2].

Emberi eredetű anyagot

Minden szérumból mintát úgy kezeljünk, mint hepatitis és AIDS fertőzésre alkalmas anyagokat és a hulladékkal az adott ország szabályai szerint járunk el.

Az Anyag Biztonsági Adatlapot (MSDS) kérésre elküldjük.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Calibrators/Controls

FIGYELEM!



H317

Allergiás bőrreakciót válthat ki.

H412

Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P273

Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280

Védőkesztyű, védőruha és szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P333+P313

Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P362+P364

Az szennyezett ruhadarabokat le kell vetni és használat előtt ki kell mosni. reakciótermék összetétele: 5-kloro-2-metil-4-izotiazolin-3-on [EC# 247-500-7] és 2-metil-4-izotiazolin-3-on [EC# 220-239-6](3:1) <0,05%

SDS

A biztonsági adatlap megtalálható a következő internetes helyen: techdocs.beckmancoulter.com

MINTAVÉTEL, FELDOLGOZÁS, TÁROLÁS ÉS HIGÍTÁS

- Szérumból a javsolt mintatípus. Ne használjunk heparinizált vagy EDTA plazmát.
- Hagyja a szérumból mintákat teljesen megalvadni centrifugálás előtt.
- A hígítatlan szérumból minták 2-8 °C-on 48 óra hosszát, < -20 °C-on 8 hétig tárolhatók, aliquotokra osztva, hogy az ismételt olvasztást-fagyasztást elkerüljük. A hígított minták (ld. Eljárás) 2-8 °C-on 24 óra hosszát, < -20 °C-on 4 hétig tárolhatók. A minták felolvasztását szobahőmérsékleten kell végezni.
- Tipikusan a szérumból mintákat IGFBP-3 zéró kalibrátorral 1:100-szorosan szükséges hígítani a teszt elvégzése előtt. Az ismerten vagy várhatóan nagyon alacsony koncentrációjú minták esetén 1:50 IGFBP-3 zéró kalibrátorral történő hígítást kell alkalmazni a tesztet megelőzően. Ha a mintában a mérendő anyag koncentrációja nagyobb, mint a legmagasabb kalibrátor értéke, a mintát a zéró kalibrátorban meg kell hígítani
- Ha a mintában a mérendő anyag koncentrációja nagyobb, mint a legmagasabb kalibrátor értéke, a mintát az IGFBP-3 zéró kalibrátorral tovább kell hígítani és újra kell mérni.

TARTALOM

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fémek lefolyóvezetékekben. Lásd a NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH közlemény: A robbanékony azidokkal kapcsolatos veszélyek (1976. 08. 16.)) közleményt.

Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefofolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetékét vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

A kitben található összes reagens - a kit 2-8 °C-on történő tárolása esetén - a címkén jelzett lejárati ideig megőrzi stabilitását. A csövek címkéjén jelzett lejárati idők a gyártó részére szolgáltatóknak információt az adott komponens hosszú távú eltarthatóságával kapcsolatban. Kérjük ezt az adatot ne vegyék figyelembe!

A feloldott vagy hígított reagensek tárolási körülményeivel kapcsolatos információ a megfelelő részben olvasható.

Anti-IGFBP-3 antitesttel bevont csövek: 2 x 50 cső (használatkész)

Minden egyes műanyag cső belső falán immobilizált kecske-anti IGFB-3 poliklonális immunglobulint tartalmaz.

125I -jelzett anti-IGFBP-3 tracer (SÁRGA): 1 db 22 mL-es üveg (használatkész)

Az üvegcsében a gyártás napján 370 kBq, 125I-jelzett kecske-anti IGFB-3 poliklonális antitestek találhatóak, marha szérumbalbumint (BSA) és nátrium-azidot (<0,1%) valamint festéket tartalmazó pufferben.

Kalibrátorok: egy db 55 mL-es 0 jelzésű (használatkész) és öt db 1-5 jelzésű üveg (liofilizált)

A kalibrátor üvegekben 0-tól kb. 100 ng/mL IGFBP-3 található marha szérumbalbumint (BSA) és ProClin 300 tartalmazó pufferben. A koncentrációk pontos értéke minden egyes ampulla címkéjén olvasható. A kalibrátorok ellenőrzése belső referencia anyaggal történik. A feloldáshoz szükséges térfogat az üveg címkéjén olvasható. Feloldást követően a kalibrátorok 2-8 °C-on 48 óra hosszat, < -20 °C alatt 2 hétig tárolhatók. Hosszabb tárolási idő nem javasolt.

A zéró kalibrátor külön is rendelhető (katalógus-szám: A99225)

Kontrollok: két üveg 1 és 2 jelöléssel (liofilizált)

The üvegek IGFBP-3-t tartalmaznak marha szérumbalbumint (BSA) és ProClin 300 tartalmazó pufferben. A feloldáshoz szükséges térfogat az üveg címkéjén, a feloldás utáni koncentráció a mellékelt nyomtatványon olvasható. Feloldást követően a kalibrátorok 2-8 °C-on 48 óra hosszat, <-20 °C alatt 2 hétig tárolhatók. Hosszabb tárolási idő nem javasolt.

SZÜKSÉGES, DE NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

A standard laboratóriumi felszerelésen kívül az alábbiak szükségesek:

- 12 x 75 mm nem bevont polisztirol cső.
- Teszt cső állvány 12 x 75 mm méretű csöveknek.
- Precíziós mikropipetták (10 µL, 50 µL és 1,0 mL).
- Szemi-automatikus pipetták (200 µL, 3,0 mL).
Rázógép ≥ 180 rpm fordulatszámmal.
- Vortex típusú keverő
- Rack dekantáló vagy leszívó rendszer.
- Abszorbens anyag a csövek leitatásához.
- 125I-ra beállított gamma-számláló
- Log-log papír vagy komputer IRMA adat-analizáló programmal.

ELJÁRÁS

A reagensek előkészítése

Engedjék a reagenseket szobahőre melegedni és alaposan keverjék össze azokat gyengéd forgatással használat előtt.

Kalibrátorok and kontrollok feloldása

Az üvegek tartalmát a címkén feltüntetett mennyiségű desztillált vízben feloldjuk. Várjunk 10 percig, majd az üveg tartalmát óvatosan keverjük össze, hogy a szétmérés előtti habképződést megelőzzük.

Minták hígítása

1:100 mértékben hígítsuk a humán szérum mintákat IGFBP-3 zéró kalibrátorral a vizsgálat előtt. (pl.: 10 µL szérum + 1,0 mL zéró kalibrátor). Az ismerten vagy várhatóan nagyon alacsony koncentrációjú minták esetén 1:50 mértékű IGFBP-3 zéró kalibrátorral történő hígítást kell alkalmazni a mérést megelőzően (pl.: 10 µL szérum + 500 µL zero kalibrátor).

Megjegyzés: NE hígítsuk az IGFBP-3 Kontrollokat és Kalibrátorokat! NE szorozzuk be a Kontrollok eredményét a minták hígítási faktorával!

A vizsgálat menete

Bemérés előtt várja meg, amíg a reagensek felmelegednek szoba-hőmérsékletre.

A kalibrátorokat, kontrollokat és a betegek mintáit duplikámban mérjük.

1. lépés Összemérés *	2. lépés Inkubáció	3. lépés Aktivitásmérés
Hígítsa a humán szérummintákat 1:100 mértékben zéró kalibrátorral.	Inkubáljunk egy éjszakán át (18-24 h) szobahőn (18-25 °C) egy ≥180 rpm-re állított rázón.	Mérjen 3,0 mL desztillált vizet az összes csőhöz (a «tótál esemény/perc» csövet kivéve), Az összes csövet dekantálja vagy szívja le (a «tótál esemény/perc» csövet kivéve), és fordítsa nyílással lefelé egy radioaktív hulladék tartályban elhelyezett abszorbensre.
Az ellenanyaggal fedett csövekhez egymás után adjunk:	Szívja le vagy dekantálja az összes csövet (kivéve a «tótál esemény/perc» csöveket) többszöri megfordítással egy szivacs tartóval egy radioaktív hulladék gyűjtőedénybe.	Ismételje meg a mosási lépéseket 2-szer (összesen 3-szori mosás).
50 µL kalibrátort, kontroll vagy hígított mintát majd azt követően azonnal 200 µL of tracer.	Csapja a csöveket erősen az abszorbenshez 1-2 percen át, hogy a folyadék leitatása tökéletes legyen.	Mérje meg számlálással a kötött esemény/perc értékeket (B) és a tótál esemény/perc értékeket (T) 1 percig.
Óvatosan keverjük össze az elegyet.		

* Mérjen 200 µL tracer oldatot 2 csőbe a tótál esemény/perc meghatározásához.

EREDMÉNYEK

Az eredményeket a standard görbéből interpolációval kapjuk meg. A görbe és a minták meghatározásával egyidőben lement kalibrátorok segítségével meghatározzuk a mintákban levő IGFBP-3 mennyiségét.

Standard görbe

A minőségbiztosítási osztályon az eredmények számítása *illesztett* görbe mentén történik, ahol a meghatározott radioaktivitás ($\text{esemény/perc}_{\text{kal}} - \text{esemény/perc}_{\text{kal0}}$) a logaritmusos függőleges tengelyen, a kalibrátorok analitkoncentrációja (ng/mL) pedig a logaritmusos vízszintes tengelyen található.

Más adat redukciós eljárások kissé eltérő eredményeket adhatnak.

Tótál aktivitás: 146 587 esemény/perc				
Kalibrátorok	IGFBP-3 (ng/mL)	esemény/perc (n=2)	B/T (%)	esemény/perc _{kal} - esemény/perc _{kal0}
0	0	1295	-	-
1	2,3	4252	2,05	2957
2	5,7	8386	4,95	7091
3	28,0	24 623	16,20	23 328
4	60,0	46 272	31,20	44 977
5	120,0	79 597	54,30	78 302

(A standard görbe csak minta, számításhoz nem használható)

Minták

Mindegyik minta esetén keresse meg a cpm (esemény/perc) vagy a B/T értékét a függőleges tengelyen, és olvassa le a vízszintes tengelyen a hozzá tartozó analitkoncentrációt.

Szorozza meg a mintaeredményeket a hígítási tényezővel (pl. 100-zal).

Az eredmények a non-glikozilált referencia anyag molekulatömege (28.75 kDa) alapján nmol/L-re válthatók. A ng/mL nmol/L koncentrációra történő átváltáshoz szorozza meg az eredményeket 0.035-tel.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

Javasolt, hogy a laboratóriumok határozzák meg a saját referencia értékeiket. A következő táblázatban található gyermekgyógyászati adatokat normal magasságú és növekedési sebességű gyermekek mintáiból határozták meg.

Életkor (év)	N	Átlag (ng/mL)	SD (ng/mL)	Medián (ng/mL)	Abszolút tartomány (ng/mL)
0 - 1	49	1965	548	1990	1030 - 3090
1 - 2	42	2154	649	2080	1100 - 3620
2 - 3	28	2231	605	2140	1200 - 3990
3 - 4	18	2312	786	2120	1400 - 4250
4 - 5	23	2363	459	2290	1630 - 3150
5 - 6	19	2676	553	2720	2000 - 4230
6 - 7	22	2924	617	2990	2000 - 4210

(A részletekért nézzék meg a **APPENDIX**)

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

A megfelelő laboratóriumi eljárásokat (GLP) szabályozó követelmények szerint időről időre kontrol mintákkal kell ellenőrizni, hogy az eredmények megfelelőek-e.

Amennyiben a csomagolás sérült, vagy amennyiben az adatok a kit teljesítőképességének romlására utalnak, kérjük, hogy lépjen kapcsolatba országának Immunotech képviselőjével, vagy írjon a következő e-mail címre: imunochem@beckman.com

MINŐSÉGI JELLEMZŐK

(További részletek a **Mellékletben**)

A reprezentatív adatok kizárólag szemléltető jellegűek. A különálló laboratóriumok eredményei ettől eltérhetnek.

Érzékenység

Analitikai szenzitivitás: 0,27 ng/mL

Funkcionai érzékenység: 0,31 ng/mL

Specifitás

A következő peptid hormonok 1 µg/cső mennyisége <3 ng/mL koncentrációt ad: hIGFBP-1 (amnion folyadékból tisztított), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Pontosság

Intra-assay

Ugyanabban a kísérletsorozatban 20 párhuzamos mintát vizsgáltak. A szérumból mintákra vonatkozó variációs koefficiens ≤4,4% volt.

Inter-assay

Mintákat duplikátban vizsgáltak 15 különböző sorozatban. A variációs koefficiens ≤13,5% volt.

Valósság

Hígítási teszt

Öt szérumból minta sorozathígítását végeztük zéró kalibrátorral. The visszanyerési százalék 82,3% és 120% közöttinek bizonyult.

Visszanyerési teszt

Alacsony koncentrációjú mintákhoz ismert mennyiségű IGFBP-3-t adtunk. A visszanyerési százalék 80,1% és 116% közöttinek adódott.

Méréstartomány (analitikai szenzitivitástól a legmagasabb értékű kalibrátorig): 0.27 – kb. 100,0 ng/mL.

KORLÁTOZÁSOK

- Ezen használati útmutató (IFU) be nem tartása jelentős hatással lehet az eredményekre.
 - A csövek megfelelő leitatásának hiánya dekantálás után az eredmények gyenge ismételtetését és hamis értékeket eredményezhet.
 - Az eredmények a beteg teljes klinikai képének (klinikai anamnézis, egyéb vizsgálatok eredményei, más releváns információk) tükrében értelmezhetők.
 - EDTA vagy heparinizált plazma használata nem javasolt.
- A szérumból IGFBP-3 proteáz aktivitás miatt immunoreaktív IGFBP-3 fragmentumokat tartalmazhat. Az intakt IGFBP-3 méréséhez megelőzően a minták size-exclusion (méret-kizárásos) kromatográfiájára lenne szükség [3].
- Kerüljük a reagensek és a minták ismételt feklolvasztását.
 - Hemolizált, icterusos vagy lipémiás mintát ne használjanak.
 - Megvan az esély rá, hogy a beteg mintájában lévő heterofil ellenanyagok interferálnak. Azok a betegek akik rendszeresen érintkeznek állatokkal vagy immunterápiát kaptak vagy diagnosztikai eljárás keretében immunglobulinokat vagy immunglobulin fragmenteket kaptak, ellenanyagokat termelhetnek, azaz HAMA-t, ami interferálhat az immunesztekkel. Ilyen interferáló ellenanyagok hibás eredményeket okozhatnak. Óvatosan értékeljék ki az olyan betegek eredményeit, akiknél ezen antitestek létezésének gyanúja felmerül.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

IMMUNORADIOMETRYCZNA METODA DO ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA IGFBP-3 W SUROWICY CZŁOWIEKA ZESTAW PRZEZNACZONY JEST DO DIAGNOSTYKI IN VITRO

ZASADA

Dwumiejscowy zestaw immunoradiometryczny (IRMA) do oznaczania białka 3 wiążącego insulinopodobny czynnik wzrostowy jest zestawem stosującym metodę kanapkową [1]. W zestawie wykorzystane są kozie przeciwciała poliklonalne. Próbkę lub kalibratory są inkubowane w próbkach już pokrytych przeciwciałem monoklonalnym i kolejno dodanym przeciwciałem, znakowanym 125I. Po inkubacji niezwiązane odczynniki są usuwane poprzez płukanie próbek. Ilość wyznakowanego 125I przeciwciała (anti-IGFBP-3) związanego z próbką jest wprost proporcjonalna do stężenia IGFBP-3 obecnego w próbce. Nieznane wartości IGFBP-3 odczytywane są, poprzez interpolację, ze stworzonej krzywej standardowej.

Podsumowanie i Wyjaśnienia dotyczące Testu patrz APPENDIX.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Uwagi ogólne:

- Do użytku diagnostycznego *in vitro*.
- Fiolki z kalibratorami i kontrolami nie powinny pozostawać otwarte przez czas dłuższy niż jest to konieczne, aby uniknąć nadmiernego odparowania zawartości fiolki.
- Nie należy mieszać odczynników z różnych serii produkcyjnych.
- nie wolno używać składników po ich dacie ważności podanej na etykiecie,
- Krzywa standardowa musi być wykonana podczas każdego oznaczania.
- Zalecane jest wykonywanie oznaczeń w duplikatach.
- kalibratory i kontrole należy delikatnie wymieszać przed użyciem; nie mieszać vortexem

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem Wejście w posiadanie, używanie, utylizacja i transfer materiałów radioaktywnych powinien być zgodny z prawem obowiązującym w kraju użytkownika. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa przy stosowaniu materiałów radioaktywnych powinno zapewnić odpowiednią ochronę:

- Nie jeść, nie pić, nie palić wyrobów tytoniowych, nie aplikować kosmetyków w obecności materiałów radioaktywnych.
- Nie pipetować ustami.
- Należy unikać wszelkich kontaktów z materiałami promieniotwórczymi, stosując rękawice i fartuch laboratoryjny.
- Wszelkie manipulacje związane z substancjami promieniotwórczymi powinny być wykonywane w wyznaczonej lokalizacji, z dala od korytarzy i innych zatłoczonych miejsc.
- Materiały radioaktywne powinny być przechowywane w zabezpieczonym pojemniku.
- Należy zapisać datę przyjęcia radioaktywnych produktów, a czas ich przechowywania powinien być zgodny z odpowiednim terminem.
- Sprzęt laboratoryjny i naczynia, które uległy kontaminacji powinny być oddzielone od pozostałych, aby nie spowodować kontaminacji krzyżowej różnymi radioizotopami
- W sytuacji zanieczyszczenia radioizotopami i/lub zgubieniu radioaktywnego materiału powinno być powzięte postępowanie zgodne z prawem obowiązującym w kraju użytkownika.
- Radioaktywne odpady powinny być przechowywane zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

Azydek sodu

Niektóre odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Azydeksodu wchodzi w reakcję z ołowiem, miedzią lub mosiądzem, tworząc wybuchowe związki. W związku z tym odczynniki zawierające azydek


sodu powinny być rozcieńczane dużą ilością wody przed wylaniem ich do kanalizacji [2].

Materiały pochodzące od człowieka

Wszystkie surowice należy tak traktować jakby były materiałem do za-każenia hepatitis lub AIDS, a niszczenie odpadów powinno być przeprowadzone zgodnie z przepisami obowiązującymi w danym kraju.

Material Safety Data Sheet (MSDS) - karta charakterystyki produktu jest dostępna na życzenie.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Calibrators/Controls	UWAGA	
		
H317		Może powodować reakcję alergiczną skóry.
H412		Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
P273		Unikać uwolnienia do środowiska.
P280		Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.
P333+P313		W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P362+P364		Zdjąć zanieczyszczoną odzież i wyprać przed ponownym użyciem. mieszanina reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-onu [EC# 247-500-7] i 2-metylo-4-izotiazolino-3-onu [EC# 220-239-6](3:1) <0,05%

SDS

Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie techdocs.beckmancoulter.com

ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE, ROZCIEŃCZANIE I PRZECHOWYWANIE

- zalecany typ próbek to surowica; (nie używać osocza z heparyną lub EDTA);
- Przed odwirowaniem należy odstawić próbki do wytworzenia pełnego skrzepu.
- nierozcieńczone próbki można być przechowywać w temperaturze 2-8°C do 48 godzin lub rozdozowane w temperaturze < -20°C do 8 tygodni. Rozcieńczone próbki (patrz Procedura) można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 24 godzin w temperaturze < -20°C do 4 tygodni. Rozmrażanie próbek musi być przeprowadzane w temperaturze pokojowej;
- typowe próbki surowicy należy przed rozpoczęciem oznaczania rozcieńczyć w stosunku 1:100 kalibratorem IGFBP-3 zero. Próbkę, wobec których istnieje przypuszczenie lub pewność, że wykażą niskie stężenie należy przed rozpoczęciem oznaczania rozcieńczyć w stosunku 1:50 kalibratorem IGFBP-3 zero;
- jeśli próbka pokazuje stężenie większe niż stężenie najwyższego kalibratora, powinna być odpowiednio dalej rozcieńczona kalibratorem „zero” a samo oznaczenie powtórzone.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w kanalizacji hydraulicznej. Zob. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (Biuletyn NIOSH: Zagrożenie wybuchowe azydkami (16.08.1976)). Po usunięciu nierozcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azydków. Azydek sodu musi być utylizowany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Wszystkie nienaruszone odczynniki zestawu są stabilne zgodnie z ich datą ważności umieszczoną na etykiecie zestawu, pod warunkiem przechowywania ich w temperaturze 2-8°C. Daty ważności są wydrukowane tylko na etykietach fiolek z przedłużonym okresem składowania składników przez producenta. Nie należy brać ich pod uwagę.

Warunki przechowywania otwartych i odtworzonych odczynników podane są w odpowiednich paragrafach.

Probówki opłaszczane pokryte przeciwciałem przeciw IGFBP-3: 2 x 50 probówek (gotowy do użycia)

Plastikowe probówki z kozią immunoglobuliną poliklonalną przeciw IGFBP-3 unieruchomioną na wewnętrznej ściance każdej probówki.

Znacznik z przeciwciała (anti-IGFBP-3) przeciw IGFBP-3 znakowanego 125I (ŻÓŁTY): jedna fiołka 22 mL (gotowy do użycia)

Na czas produkcji, fiołka zawiera 370 kBq (<10 µCi) koziego przeciwciała poliklonalnego przeciw IGFBP-3 znakowanego 125I w buforze zawierającym białka (BSA), azydek sodu (<0,1%) oraz barwnik.

Kalibratory: jedna buteleczka 55 mL kalibrator 0 (gotowy do użycia) i pięć fiołek, oznaczone 1-5 (liofilizat)

Fiolki z kalibratorami zawierają od 0 do około 100 ng/mL IGFBP-3 w buforze z białkami (BSA) i ProClin 300. Dokładne stężenia są podane na etykiecie każdej fiołki. Kalibratory są wzorcowane w oparciu o wewnętrzne standardy referencyjne. Zawartość fiołek 1-5 jest odtwarzana przez dodanie wody destylowanej, której objętość podana jest na etykiecie fiołki. Odtworzone kalibratory można przechowywać w temperaturze 2-8 °C do 48 godzin lub w temperaturze <-20°C do 2 tygodni. Nie zaleca się przechowywania powyżej wskazanego okresu.

Kalibrator „zero” może być również zamówiony oddzielnie (kod A99225).

Kontrolne: dwie fiołki oznaczone 1,2 (liofilizat)

Fiolki zawierają IGFBP-3 w buforze z białkami (BSA) i ProClin 300. Oczekiwane stężenia są podane w suplemencie dołączonym do zestawu. Zawartość fiołek 1,2 jest odtwarzana przez dodanie wody destylowanej, której objętość podana jest na etykiecie fiołki. Odtworzone kontrole można przechowywać w temperaturze 2-8 °C do 48 godzin lub w temperaturze <-20°C do 2 tygodni. Nie zaleca się przechowywania powyżej wskazanego okresu.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Poza standardowym wyposażeniem laboratorium wymagane są następujące urządzenia:

- polistyrenowe probówki (12 mm x 75 mm)
- stojak na probówki (12 x 75 mm)
- dokładne mikropipety (10 µL, 50 µL i 1,0 mL).
- półautomatyczne pipety (200 µL, 3,0 mL).
- wytrząsarka osiągająca ≥ 180 rpm.
- Mieszadło wirowe („vortex”).
- stojak gąbkowy lub inne urządzenie do dekantacji lub system odsysający
- materiał chłonący do osuszania probówek
- Licznik gamma do 125 J.
- papier do wykresu logarytmicznego (log-log) lub program komputerowy do analizy danych metody IRMA

PROCEDURA

Przygotowanie odczynników

Doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej a następnie dokładnie wymieszać delikatnie wstrząsając (przez odwracanie fiołki) przed użyciem.

Przygotowanie kalibratorów i kontroli

Zawartość fiołek jest odtwarzana przez dodanie wody destylowanej, której objętość podana jest na etykiecie fiołki. Odczekać 10 minut od odtworzenia liofilizatu wodą, następnie delikatnie zmieszać aby uniknąć spienienia, przed pipetowaniem.

Rozcieńczanie próbek

Próbki ludzkiej surowicy należy, przed rozpoczęciem oznaczania, rozcieńczać w stosunku 1:100 kalibratorem IGFBP-3 zero. (przykład: 10 µL

surowicy + 1,0 mL kalibratora zero). Próbki ludzkiej surowicy, wobec których istnieje przypuszczenie lub pewność, że wykażą niskie stężenie IGFBP-3, należy przed rozpoczęciem oznaczania rozcieńczyć w stosunku 1:50 kalibratorem IGFBP-3 zero (przykład: 10 µL surowicy + 500 µL kalibratora zero).

Uwaga: NIE rozcieńczać kontroli ani kalibratorów. NIE przemażać wyników z kontroli przez współczynnik rozcieńczenia próbek.

Procedura oznaczania

Wszystkie odczynniki przed pipetowaniem należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Oznaczać kalibratory, kontrole i próbki pacjentów w duplikatach.

Etap 1 Dodawanie *	Etap 2 Inkubacja	Etap 3 Zliczanie
Rozcieńczyć próbki ludzkiej surowicy kalibratorem zero w stosunku 1:100.	Inkubować 18-24 godziny w temperaturze pokojowej (18-25°C) na wytrząsarce ustawionej na ≥ 180 rpm.	Dodać 3,0 mL destylowanej wody do wszystkich probówek poza probówkami «całkowite cpm». Odciągnąć lub dekantować zawartość probówek, poza probówkami «całkowite cpm», odwracając stojak gąbkowy tak by zawartość spłynęła do pojemniczka na odpad radioaktywny.
Do pokrytych przeciwciałem probówek dodać kolejno:	Odciągnąć lub dekantować płynną zawartość probówek, (poza probówkami «całkowite cpm»), odwracając stojak gąbkowy tak by zawartość spłynęła do pojemniczka na odpad radioaktywny	Jeszcze dwukrotnie powtórzć etap płukania (w sumie 3-krotne płukanie).
50 µL kalibratora, kontroli lub próbki, następnie niezwłocznie dodać 200 µL znacznika.	Strząsnąć zdecydowanie probówkę na chłonący materiał aby ułatwić całkowite odsączenie, osuszać probówki przez 1-2 minuty.	Zliczać związane cpm (B) oraz całkowite cpm (T) przez 1 min.
Zmieszać delikatnie.		

* Dodać 200 µL znacznika do 2 dodatkowych probówek, aby otrzymać całkowite cpm.

WYNIKI

Wyniki należy odczytać z krzywej standardowej. Krzywa ta służy do oznaczania stężenia IGFBP-3 w próbkach, mierzonego w tym samym czasie co kalibratory.

Krzywa standardowa

Wyniki w dziale kontroli jakości obliczono przy użyciu krzywej *składanej* dopasowania z oznaczoną promieniotwórczością ($cpm_{kal} - cpm_{kal0}$) na logarytmicznej osi pionowej i stężeniem analitu w kalibratorach na logarytmicznej osi poziomej (ng/mL).

Zastosowanie innych metod do opracowania danych może dać nieco inne wyniki.

Całkowita aktywność: 146 587 cpm				
Kalibratory	IGFBP-3 (ng/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	($cpm_{kal} - cpm_{kal0}$)
0	0	1295	-	-
1	2,3	4252	2,05	2957
2	5,7	8386	4,95	7091
3	28,0	24 623	16,20	23 328
4	60,0	46 272	31,20	44 977
5	120,0	79 597	54,30	78 302

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

Próbki

W przypadku każdej próbki należy zlokalizować wartość cpm lub B/T na osi pionowej i odczytać odpowiednie stężenie analitu na osi poziomej.

Pomnożyć wyniki próbki przez współczynnik rozcieńczenia (np. 100).

Wyniki można przeliczyć na nmol/L w oparciu o masę cząsteczkową nie-glikozylowanego standardu referencyjnego (28.75 kDa). Aby przeliczyć ng/mL na nmol/L pomnóż wynik przez 0.035.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości normalne. Poniższe dane oraz dane w suplemencie „Appendix” są rezultatem badań w wielu ośrodkach. Dane pediatryczne w poniższej tabeli uzyskano od dzieci z nie odbiegającymi od normy wagą i wzrostem.

Wiek (lat)	N	Średnia wartość (ng/mL)	SD (odchylenie standardowe) (ng/mL)	Median (ng/mL)	Całkowity zakres (ng/mL)
0 - 1	49	1965	548	1990	1030 - 3090
1 - 2	42	2154	649	2080	1100 - 3620
2 - 3	28	2231	605	2140	1200 - 3990
3 - 4	18	2312	786	2120	1400 - 4250
4 - 5	23	2363	459	2290	1630 - 3150
5 - 6	19	2676	553	2720	2000 - 4230
6 - 7	22	2924	617	2990	2000 - 4210

(Szczegóły, patrz APPENDIX)

KONTROLA JAKOŚCI

Dobrze funkcjonujące laboratorium dla swej wiarygodności stosuje regularnie wewnętrzną kontrolę jakości otrzymanych wyników. Te próbki muszą być przygotowywane i oznaczane zgodnie z procedurą. Ich przydatność do oceny każdego zestawu będzie właściwa przy zastosowaniu odpowiedniej analizy statystycznej.

Odbiegające od normy rezultaty dla prób kontrolnych mogą bowiem wskazywać na nieprecyzyjność czynności w czasie oznaczania, niewłaściwe użytkowanie próbek lub wadliwość odczynników. W przypadku wadliwości zestawu lub jeśli uzyskane dane odbiegają od normy prosimy o kontakt z lokalnym dystrybutorem lub na adres: imunochem@beckman.com

CHARAKTERYSTYKA TESTU

(Po więcej wiadomości zajrzyj do zestawu danych w “DODATKU”)

Reprezentatywne dane są przedstawiane tylko do celów ilustracyjnych. Uzyskiwane parametry mogą się różnić w zależności od laboratoriów.

Czułość

Analalityczna czułość: 0,27 ng/mL

Czułość funkcjonalna: 0,31 ng/mL

Specyficzność

Następujące hormony peptydowe w ilości 1 µg/probówkę dały stężenie <3 ng/mL: hIGFBP-1 (oczyszczzone wody płodowe), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Precyzja

Wewnątrz zestawu

Próbki z tej samej serii były oznaczane 20 razy. Współczynniki wariancji wyniosły ≤4,4%.

Między oznaczeniami

Próbki były oznaczane w duplikatach w 15 różnych seriach. Współczynniki wariancji wyniosły ≤13,5%.

Kontrola dokładności

Test rozcieńczania

Próbki surowicy były seryjnie rozcieńczane kalibratorem zero. Procentowe odzyski obliczono w zakresie 82,3% do 120%.

Test odzysku

Do próbek surowicy o niskim stężeniu dodano próbki o znanej zawartości IGFBP-3. Procentowe odzyski obliczono w zakresie 80,1% do 116%.

Zakres pomiarowy (od czułości analitycznej testu do stężenia najwyższego kalibratora): 0.27 do około 100,0 ng/mL

OGRANICZENIA

- Niestosowanie się do instrukcji używania może znacząco wpłynąć na wyniki
- Niewystarczające osuszenie próbek po dekantacji może spowodować słabą replikację i błędne wartości.
- Wyniki powinny być interpretowane w świetle całkowitego obrazu klinicznego pacjenta, włączając historię choroby, dane z innych testów i inne stosowne informacje.
- Nie zaleca się używania osocza z heparyną lub EDTA jako próbek.
Surowica, w której występuje aktywność IGFBP-3 proteazy, może zawierać immunoreaktywne fragmenty IGFBP-3. Pomiar IGFBP-3-intact w tych próbkach może wymagać wstępnego przeprowadzenia chromatografii rozmiarów wykluczających [3].
- Należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania składników zestawu oraz próbek.
- Nie używać zhemolizowanych, żółtaczkowych i lipemicznych próbek.
- Przeciwciała heterofiliczne obecne w próbkach pacjenta mogą zakłócić prawidłowe oznaczenie. Pacjenci mający kontakt ze zwierzętami bądź poddani immunoterapii lub innym metodom diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub ich fragmentów mogą produkować przeciwciała takie jak np.: HAMA zakłócające właściwe oznaczenie zestawem i mogące być powodem błędnych wyników. Wyniki pacjentów podejrzanych o obecność podobnych przeciwciał należy poddać uważnej analizie.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

IMUNORADIOMETRICKÉ KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR BINDING PROTEIN (IGFBP-3) V LIDSKÉM SÉRU TOTO STANOVENÍ JE URČENO PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ IN VITRO

PRINCIP

Imunoradiometrické stanovení IGFBP-3 (Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3) je stanovení typu "sandwich" [1]. V soupravě je použita kozí polyklonální protilátka. Vzorky a kalibrátory se inkubují v protilátkou potažených zkumavkách, společně s protilátkou značenou 125I. Po inkubaci se obsah zkumavek vymyje, aby se odstranila nenavázaná značená protilátka. Vázaná aktivita 125I se poté měří na gama-čítači. Koncentrace IGFBP-3 ve vzorcích je přímo úměrná změřené radioaktivitě a získá se interpolací z kalibrační křivky.

Souhrn a vylkad stanovení jsou uvedeny v příloze "APPENDIX".

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Obecné poznámky:

- Pro diagnostické účely *in vitro*.
- Lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky nechávejte otevřené jen po nejnutnější dobu, aby nedocházelo k odpařování.
- Nemíchejte substance ze souprav různých šarží.
- Nepoužívejte žádnou složku po uplynutí doby expirace uvedené na jejím štítku.
- Pro každou novou sérii analýz je nutné provést novou kalibraci.
- Doporučuje se provádět stanovení v duplikátech.
- Kalibrátory a kontroly se musí před použitím promíchat převrácením, spíše než na vibračním míchadle vortex.

Základní pravidla radiační bezpečnosti

Tento radioaktivní materiál mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracovníci, která splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zářiči. Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- Všechny radioaktivní látky musí být skladovány v původním balení a jen na místech k tomu určených.
- Nepipetujte ústy.
- Při práci s radioaktivními materiály zamezte kontaktu s nimi použitím rukavic a laboratorního pláště.
- Veškerá manipulace s radioaktivními látkami musí probíhat v příslušných prostorách oddělených od chodeb a jiných frekventovaných míst.
- V laboratořích určených k práci s radioaktivními látkami je zakázáno jíst, pít, kouřit, líčit se a pod.
- Obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek.
- Povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat. Všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.
- V případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů.
- Radioaktivní odpad likvidujte v souladu s platnými zákony a předpisy.

Azid sodný

Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, mědí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagentie splachujte velkým množstvím vody [2].

Materiál lidského původu

Se všemi krevními vzorky musí být manipulováno jako s potenciálně infekčními (hepatitis, nebo AIDS). Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

Bezpečnostní list materiálu (MSDS) lze dodat na požádání.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Calibrators/Controls

VAROVÁNÍ



H317	Může vyvolat alergickou kožní reakci.
H412	Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.
P273	Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
P280	Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.
P333+P313	Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
P362+P364	Kontaminované části oděvu svlékněte a před použitím vyperte. reakční hmota: 5-chloro-2-metyl-4-izotiazolin-3-on [EC# 247-500-7] a 2-metyl-4-izotiazolin-3-on [EC# 220-239-6] (3:1) <0,05 %

SDS

Bezpečnostní list je k dispozici na adrese
techdocs.beckmancoulter.com

SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

- Odebírejte vzorky krve do zkumavek bez aditiv. Nepoužívejte vzorky plazmy (EDTA, heparin).
- Vzorky séra nechejte před odstředěním náležitě srazit.
- Neředěné vzorky lze skladovat při 2-8 °C, jestliže bude stanovení provedeno do 48 hodin. Při delším skladování (nejdéle 8 týdnů) je nutno vzorky rozdělit na alikvoty a zamrazit při <-20 °C. Zředěné vzorky (viz Postup) se mohou skladovat při 2-8 °C do 24 hodin nebo při <-20 °C do 4 týdnů. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.
- Běžné vzorky ředte před stanovením 1:100 nulovým kalibrátorem. Vzorky, u nichž se očekává nízký obsah IGFBP-3 se ředí nulovým kalibrátorem 1:50.
- Pokud obsahují vzorky vyšší koncentraci, než je koncentrace nejvyššího kalibrátoru, je třeba je dále zředit nulovým kalibrátorem a znovu analyzovat.

OBSAH

Konzervační činidlo azid sodný může v kovovém odpadním vedení vytvářet výbušné sloučeniny. Viz NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Bulletin NIOSH: Nebezpečí výbušného azidu) (16. 8. 1976).

Po vypuštění neředěné reagentie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagentie v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Data expirací uvedené na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování u výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Skladovací podmínky pro reagentie po rekonstituci jsou uvedeny v příslušných kapitolách.

Zkumavky potažené protilátkou proti IGFBP-3: 2 x 50 kusů; připraveny k použití.

Plastové zkumavky, potažené kozím imunoglobulinem proti IGFBP-3 na vnitřní stěně každé zkumavky.

Radioindikátor protilátka proti IGFBP-3-125I (ŽLUTÝ): 1 lahvička (22 ml); připraven k použití.

Lahvička obsahuje ke dni výroby 370 kBq (<10 µCi) 125I značené polyklonální protilátka proti IGFBP-3 v tlumivém roztoku s proteiny, azidem sodným (<0,1 %) a barvivem.

Kalibrátory: 1 lahvička (55 ml, označená 0); připravená k použití + 5 lahviček, označených 1-5; lyofilizáty

Lahvičky obsahují od 0 do přibližně 100 ng/ml IGFBP-3, v tlumivém roztoku s proteiny a ProClinem 300. Přesné koncentrace jsou uvedeny na štítcích lahviček. Hodnoty kalibrátorů byly nastaveny pomocí interního referenčního materiálu. Obsah lahviček 1-5 se rozpustí v destilované vodě, jejíž objem je uveden na štítku lahvičky. Po rekonstituci skladujte při 2-8 °C do 48 hodin, nebo při <-20 °C, do 2 týdnů. Delší skladování se nedoporučuje.

Nulový kalibrátor je možno objednat i samostatně (kat.č. A99225).

Kontrolní vzorky: 2 lahvičky označené 1, 2; lyofilizáty.

Lahvičky obsahují IGFBP-3, lyofilizovaný v tlumivém roztoku s proteiny a ProClinem 300. Koncentrační rozsah očekávaných hodnot je uveden v příloze návodu. Obsah lahviček 1-2 se rozpustí v destilované vodě, jejíž objem je uveden na štítku lahvičky. Po rekonstituci skladujte při 2-8 °C do 48 hodin, nebo při <-20 °C, do 2 týdnů. Delší skladování se nedoporučuje.

VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- 12x75 mm plastové zkumavky pro stanovení „totalu“,
- stojánek pro zkumavky rozměru 12 x 75 mm,
- přesná mikropipeta (10 µl, 50 µl a 1,0 ml),
- poloautomatická pipeta (200 µl, 3,0 ml),
- horizontální třepačka (≥ 180 kmitů /min),
- Vibrační míchadlo.
- stojánek s držákem zkumavek pro dekantaci nebo vývěva
- Filtrační papír pro osušení zkumavek.
- Gama-čítač, kalibrovaný na 125I.
- log-log papír nebo počítač s programem pro vyhodnocování analýz IRMA.

POSTUP

Příprava a skladování reagensů

Vytemperujte všechny reagensy na laboratorní teplotu a řádně je promíchejte jemným převracením.

Příprava kalibrátorů a kontrolních vzorků

Obsah lahviček se rozpustí v destilované vodě, jejíž objem je uveden na štítku lahvičky. Po přidání vody nechte volně rozpouštět 10 minut a potom lehce bez napěnění promíchejte.

Ředění vzorků

Vzorky ředte před stanovením 1:100 nulovým kalibrátorem (např. 10 µl séra + 1,0 ml nulového kalibrátoru). Vzorky, u nichž se očekává nízký obsah IGFBP-3, ředte před stanovením 1:50 (např. 10 µl séra + 500 µl nulového kalibrátoru).

Poznámka: kalibrátory a kontroly NEŘEĎTE. Výsledky kontrol NENÍ třeba násobit ředícím faktorem.

Schéma postupu

Nechte reagensy před pipetací vytemperovat na laboratorní teplotu.

Kalibrátory, kontrolní vzorky a neznámé vzorky analyzujte v duplikátech.

Krok 1 Pipetace*	Krok 2 Inkubace	Krok 3 Měření
Zředte vzorky séra 1:100 nulovým kalibrátorem.	Inkubujte přes noc (18-24h) při laboratorní teplotě 18 - 25 °C, za stálého třepání ≥180 kmitů/min.	Přidejte 3,0 ml destilované vody do všech zkumavek (s výjimkou 2 zkumavek pro „total“).
Do potažených zkumavek pipetujte na dno postupně:	Odsajte nebo vylijte obsah zkumavek do radioaktivního odpadu (s výjimkou 2 zkumavek pro „total“).	Odsajte nebo vylijte obsah zkumavek a zopakujte promytí 2 x – celkem 3 promytí.
50 µl kalibrátoru, kontroly nebo vzorku, okamžitě přidejte 200 µl radioindikátoru. Promíchejte.	Po vylití oklepněte zkumavky na savý podklad a nechte je obrácené 1-2 minuty.	Měřte po dobu 1 min. vázanou aktivitu (B) a celkovou aktivitu (T).

* Napipetujte po 200 µl radioindikátoru do 2 nepotažených zkumavek pro zjištění celkové aktivity.

VÝSLEDKY

Výsledky jsou získány proložení z kalibrační křivky. Křivka slouží k určení koncentrace IGFBP-3 pouze ve vzorcích měřených současně s kalibrátory.

Kalibrační křivka

Výsledky v oddělení kontroly kvality jsou vypočteny za použití křivky *spline* s parametrem určené radioaktivity ($cpm_{kar} - cpm_{kat}$) na svislé ose log a koncentrací analytu kalibrátorů na vodorovné ose log (ng/ml).

Jiné metody zpracování mohou dávat mírně rozdílné výsledky.

Celková aktivita: 146 587 cpm				
Kalibrátory	IGFBP-3 (ng/ml)	cpm (n=2)	B/T (%)	$cpm_{kal} - cpm_{kat,0}$
0	0	1 295	-	-
1	2,3	4 252	2,05	2 957
2	5,7	8 386	4,95	7 091
3	28,0	24 623	16,20	23 328
4	60,0	46 272	31,20	44 977
5	120,0	79 597	54,30	78 302

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

Vzorky

Pro každý vzorek vyhledejte na svislé ose hodnotu cpm nebo B/T a na vodorovné ose odečtěte odpovídající koncentraci analytu.

Výsledky vzorků vynásobte faktorem zředění (např. 100).

Přepočet koncentrací z ng/ml na nmol/l je založen na molekulové hmotnosti neglykosylovaného referenčního standardu (28,75 kDa) a provede se vynásobením výsledků v ng/ml číslem 0,035.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní rozmezí referenčních hodnot. Hodnoty uvedené v tabulce a v Apendixu jsou z výsledkem studie z mnoha center. Data pro děti v následující tabulce byla získána ze vzorků od dětí s normální výškou a normálním vzrůstem.

Věk (let)	N	Průměr (ng/ml)	SD (ng/ml)	Medián (ng/ml)	Absolutní rozsah (ng/ml)
0 - 1	49	1 965	548	1 990	1 030 - 3 090
1 - 2	42	2 154	649	2 080	1 100 - 3 620
2 - 3	28	2 231	605	2 140	1 200 - 3 990
3 - 4	18	2 312	786	2 120	1 400 - 4 250
4 - 5	23	2 363	459	2 290	1 630 - 3 150
5 - 6	19	2 676	553	2 720	2 000 - 4 230
6 - 7	22	2 924	617	2 990	2 000 - 4 210

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá, že se kontrolní vzorek používá v každé kalibraci, aby se zajistila kontrola kvality získaných výsledků. Kontrolní vzorky musí být zpracovány stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

Jestliže kontrolní vzorky neposkytnou náležitě hodnoty, může to být známkou nepřesné manipulace, nesprávného nakládání se vzorky nebo znehodnocení reagensů. V případě závažného poškození obalu, nebo jestliže získané

výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení, kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(Podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Vzorová data slouží pouze k ilustrativním účelům. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

Citlivost

Analytická citlivost: 0,27 ng/ml

Funkční citlivost: 0,31 ng/ml.

Specifita

1 µg/zkumavku následujících peptidů dává výsledky <3 ng/ml: hIGFBP-1 (přečištěný z plodové vody), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Přesnost

Intra-assay

Vzorky byly analyzovány 20x v jednom stanovení. Hodnota variačního koeficientu byla menší nebo rovna 4,4 %.

Inter-assay

Vzorky byly analyzovány duplikátech v 15 nezávislých analýzách. Hodnota variačního koeficientu byla menší nebo rovna 13,5 %.

Správnost

Test ředění

Vzorky s vysokou koncentrací byly postupně ředěny a analyzovány. Naměřené hodnoty „recovery“ se pohybovaly v rozmezí 82,3 % až 120 %.

Test „recovery“

Ke vzorkům s nízkou hladinou IGFBP-3 byla přidána různá známá množství IGFBP-3 a vzorky byly analyzovány. Naměřené hodnoty „recovery“ se pohybovaly v rozmezí 80,1 % až 116 %.

Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru): 0,27 do přibližně 100 ng/ml.

OMEZENÍ

- Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům.
- Nedostatečné osušení zkumavek po dekantaci může vést k nepřesným výsledkům.
- Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.
- Nedoporučuje se použití plazmy (EDTA, heparin).

Vzorky séra, obsahující proteázu, štěpící IGFBP-3, mohou obsahovat imunoreaktivní fragmenty IGFBP-3. Takové vzorky je třeba před stanovením intaktní molekuly IGFBP-3 upravit pomocí „size exclusion“ chromatografií [3].

- Vyhněte se opakovanému zmrazování a rozmrazování reagensů a vzorků.
- Nepoužívejte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.
- U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních. Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

IMUNORADIOMETRICKÉ KVANTITATÍVNE STANOVENIE INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR BINDING PROTEÍN (IGFBP-3) V ĽUDSKOM SÉRE TOTO STANOVENIE JE URČENÉ PRE DIAGNOSTICKÉ POUŽITIE IN VITRO.

PRINCÍP

Imunorádiometrické stanovenie IGFBP-3 (Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3) je stanovenie typu "sandwich" [1]. V súprave je použitá polyklonálna kozie protilátka. Vzorky a kalibrátory sa inkubujú v skúmavkách potiahnutých protilátkou spoločne s protilátkou značenou 125I. Po inkubácii sa obsah skúmaviek vymyje, aby sa odstránila nenaviazaná značená protilátka. Viazaná aktivita 125I sa potom merajú na gama-čítači. Koncentrácia IGFBP-3 vo vzorkách je priamo úmerná zmeranej rádioaktivity a získa sa interpoláciou z kalibračnej krivky.

Súhrn a výklad stanovení sú uvedené v prílohe "APPENDIX".

VÝSTRAHA A OPATRENIA

Obecné poznámky:

- Na *in vitro* diagnostické použitie.
- Flaštičky a kalibrátory a kontrolnými vzorkami nechávajte otvorené čo najkratšie, aby nedochádzalo k odparovaniu.
- Nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží.
- Nepoužívajte žiadnu zložku po uplynutí expirácie uvedenej na jej štítku.
- Ku každému radu stanovení je treba vždy stanoviť novú kalibračnú závislosť.
- Doporučuje sa robiť stanovenia v duplikátoch.
- kalibrátory a kontroly sa musia pred použitím premiešať prevracaním, skôr ako na vibračnom miešadle vortex.

Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Tento rádioaktívny materiál môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktoré spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými žiaričmi. Pri práci s rádioaktívnymi látkami dodržujte nasledujúce pravidlá:

- Všetky rádioaktívne látky sa musia skladovať v pôvodnom balení a iba na miestach k tomu určených.
- Nepipetujte ústami.
- Používaním rukavíc a laboratórneho plášťa zabráňte kontaktu s rádioaktívnymi materiálmi.
- Všetky manipulácie s rádioaktívnymi látkami by sa mali vykonávať na vhodnom mieste mimo chodieb a iných rušných priestorov.
- V laboratóriách určených na prácu s rádioaktívnymi látkami je zakázané jesť, piť, fajčiť, líčiť sa a pod.
- Obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek.
- Povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať.
- V prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov.
- Rádioaktívny odpad likvidujte v súlade s platnými zákonmi a predpismi.

Azid sodný

Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagenty splachujte veľkým množstvom vody [2].

Materiál ľudského pôvodu

So všetkými krvnými vzorkami sa musí manipulovať ako s potenciálne infekčnými (hepatitis alebo AIDS). Všetok vzniknutý odpad treba likvidovať podľa platných predpisov.

Bezpečnostný list materiálov (MSDS) možno dodať na požiadanie.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Calibrators/Controls

POZOR



H317

Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.

H412

Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P273

Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.

P280

Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.

P333+P313

Ak sa objaví podráždenie kože alebo vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P362+P364

Všetky kontaminované časti odevu vyzlečte a pred použitím vyperte.

reakčná hmota:

5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ón [EC# 247-500-7] a 2-metyl-4-izotiazolín-3-ón [EC# 220-239-6] (3:1) <0,05 %

SDS

Bezpečnostný list je k dispozícii na stránkach techdocs.beckmancoulter.com

ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

- Odoberajte vzorky krvi do skúmaviek bez aditív. Nepoužívajte vzorky plazmy (EDTA, heparín).
- Vzorky krvi nechajte pred centrifugáciou úplne vyzrážať.
- Neriedené vzorky možno skladovať pri 2-8 °C, ak bude stanovenie uskutočnené do 48 hodín. Pri dlhšom skladovaní (najdlhšie 8 týždňov) je nutné vzorky roydeliť na alikvóty a zamraziť pri < -20 °C. Zriedené vzorky (viď Postup) sa môžu skladovať pri 2-8 °C do 24 hodín alebo pri < -20 °C do 4 týždňov. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.
- Bežné vzorky riedte pred stanovením 1:100 nulovým kalibrátorom. Vzorky, u ktorých sa očakáva nízky obsah IGFBP-3 sa riedia nulovým kalibrátorom 1:50.
- Pokiaľ obsahujú vzorky vyššiu koncentráciu ako je koncentrácie najvyššieho kalibrátora, je treba ich ďalej zriediť nulovým kalibrátorom a znovu analyzovať.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Viď bulletin NIOSH: Nebezpečenstvo výbušného azidu (16. 8. 1976).

Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Všetky reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Dátumy expirácií uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Podmienky pre skladovanie reagentov po rekonštitúcii sú uvedené v príslušných kapitolách.

Skúmavky potiahnuté protilátkou proti IGFBP-3: 2 x 50 kusov; pripravené k použitiu.

Plastové skúmavky, potiahnuté kozím imunoglobulínom proti IGFBP-3 na vnútornej stene každej skúmavky.

Rádioindikátor protilátka proti IGFBP-3-125I (ŽLTÝ): 1 fľaštička (22 ml); pripravené k použitiu.

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby 370 kBq (<10 µCi) 125I značenej protilátky proti IGFBP-3 v tlmivom roztoku s proteínmi, azidom sodným (<0,1 %) a farbivom.

Kalibrátory: 1 fľaštička (55 ml, označená 0); pripravená k použitiu + 5 fľaštičiek, označených 1-5; lyofilizáty.

Fľaštičky obsahujú od 0 do približne 100 ng/ml IGFBP-3, v tlmivom roztoku s proteínmi a ProClinom 300. Presné koncentrácie sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Kalibrátory sú verifikované interným referenčným štandardom. Obsah fľaštičiek 1-5 sa rozpustí v destilovanej vode, ktorej objem je uvedený na štítku každej fľaštičky. Po rekonštitúcii skladujte pri 2-8 °C do 48 hodín, alebo pri < -20 °C, do 2 týždňov. Dlhšie skladovanie sa neodporúča.

Nulový kalibrátor možno objednať i samostatne (kat. č. A99225).

Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky označené 1, 2; lyofilizáty.

Fľaštičky obsahujú IGFBP-3, lyofilizovaný v tlmivom roztoku s proteínmi a ProClinom 300. Koncentračný rozsah očakávaných hodnôt je uvedený v prílohe návodu. Obsah fľaštičiek 1-2 sa rozpustí v destilovanej vode, ktorej objem je uvedený na štítku fľaštičky. Po rekonštitúcii skladujte pri 2-8 °C do 48 hodín, alebo pri < -20 °C, do 2 týždňov. Dlhšie skladovanie sa neodporúča.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- 12x75 mm plastové skúmavky, pre stanovenie „totalu“,
- stojan pre skúmavky rozmeru 12 x 75 mm,
- presná mikropipeta (10 µl, 50 µl a 1,0 ml),
- poloautomatická pipeta (200 µl, 3,0 ml), horizontálna trepačka (≥ 180 kmitov/min)
- Vibračné miešadlo.
- stojan s držiakom skúmaviek – pre dekantáciu, alebo výveva
- filtračný papier pre osušenie skúmaviek,
- Gama-merač kalibrovaný na 125I.
- log-log papier alebo počítač s programom pre vyhodnocovanie analýz IRMA.

POSTUP

Príprava reagencií

Vytemperujte všetky reagenty na laboratórnu teplotu a riadne ich premiešajte jemným prevracaním.

Príprava kalibrátorov a kontrolných vzoriek

Obsah fľaštičiek sa rozpustí v destilovanej vode, ktorej objem je uvedený na štítku fľaštičky. Po pridaní vody nechajte voľne rozpúšťať 10 minút a potom ľahko bez napenenia premiešajte.

Riedenie vzoriek

Vzorky riedte pred stanovením 1:100 nulovým kalibrátorom (napr. 10 µl séra + 1,0 ml nulového kalibrátoru). Vzorky, u ktorých sa očakáva nízky obsah IGFBP-3 riedte pred stanovením 1:50 (napr. 10 µl séra + 500 µl nulového kalibrátoru).

Poznámka: kalibrátory a kontroly NERIEĎTE. Výsledky kontrol NIE JE treba násobiť riediacim faktorom.

Schéma postupu

Nečajte reagenty pred pipetovaním vytemperovať na laboratórnu teplotu.

Kalibrátory, kontrolné vzorky a neznáme vzorky analyzujte v duplikátoch.

Krok 1 Pipetácia *	Krok 2 Inkubácia	Krok 3 Meranie
Zriedte vzorky séra 1:100 nulovým kalibrátorom.	Inkubujte cez noc (18-24h) pri laboratórnej teplote 18 - 25 °C, za stáleho trepania ≥180 kmitov/min.	Pridajte 3,0 ml destilovanej vody do všetkých skúmaviek (s výnimkou 2 skúmaviek pre „total“).
Do potiahnutých skúmaviek pipetujte na dno postupne:	Odsajte alebo vylejte obsah skúmaviek do rádioaktívneho odpadu (s výnimkou 2 skúmaviek pre „total“).	Odsajte alebo vylejte obsah skúmaviek a zopakujte premytie 2 x – celkom 3 premytia.
50 µl kalibrátora, kontroly alebo vzorky, okamžite 200 µl rádioindikátora. Premiešajte.	Oklepte skúmavky na savý podklad a nechajte je obrátené 1-2 minúty.	Merajte po dobu 1 min. viazanú aktivitu (B) a celkovú aktivitu (T).

* Napipetujte po 200 µl rádioindikátora do 2 nepotiahnutých skúmaviek na zistenie celkovej aktivity.

VÝSLEDKY

Výsledky sú získané preložením z kalibračnej krivky. Krivka slúži k určeniu koncentrácie IGFBP-3 iba vo vzorkách meraných súčasne s kalibrátormi

Kalibračná krivka

Výsledky boli na oddelení kontroly kvality vypočítané preložením krivky metódou *spline* v grafe s hodnotami stanovenej rádioaktivity (cpm_{kal} - $cpm_{kal,0}$) na logaritmickej vertikálnej osi a koncentraciami analytov v kalibrátoroch na logaritmickej horizontálnej osi (ng/ml).

Iné metódy spracovania môžu dávať mierne rozdielne výsledky.

Celková aktivita: 146 587 cpm				
Kalibrátory	IGFBP-3 (ng/ml)	cpm (n=2)	B/T (%)	cpm_{kal} - $cpm_{kal,0}$
0	0	1295	-	-
1	2,3	4252	2,05	2957
2	5,7	8386	4,95	7091
3	28,0	24 623	16,20	23 328
4	60,0	46 272	31,20	44 977
5	120,0	79 597	54,30	78 302

(Príklad typického stanovenia, nepoužívajte pre výpočet.)

Vzorky

Pri každej vzorke vyhladajte na vertikálnej osi hodnotu cpm alebo B/T a odčítajte príslušnú koncentráciu analytu na horizontálnej osi.

Výsledky zo vzoriek vynásobte faktorom riedenia (napr. 100).

Prepočet koncentrácií z ng/ml na nmol/l je založený na molekulovej hmotnosti neglykozylovaného referenčného štandardu (28,75 kDa) a urobí sa vynásobením výsledkov v ng/ml číslom 0,035.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastné rozmedzie referenčných hodnôt. Hodnoty uvedené v tabuľke a v Apendixe sú výsledkom štúdie z mnoho centier. Dáta pre deti v nasledujúcej tabuľke boli získané zo vzoriek od detí s normálnou výškou a normálnym vzhľadom.

Vek (rokov)	N	Priemer (ng/ml)	SD (ng/ml)	Medián (ng/ml)	Absolútny rozsah (ng/ml)
0 - 1	49	1965	548	1990	1030 - 3090
1 - 2	42	2154	649	2080	1100 - 3620
2 - 3	28	2231	605	2140	1200 - 3990
3 - 4	18	2312	786	2120	1400 - 4250
4 - 5	23	2363	459	2290	1630 - 3150
5 - 6	19	2676	553	2720	2000 - 4230
6 - 7	22	2924	617	2990	2000 - 4210

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá, že kontrolná vzorka sa používa pri každej kalibrácii, aby sa zaistila kontrola kvality získaných výsledkov. Kontrolné vzorky sa musia spracovať rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a na vyhodnotenie výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

nesprávneho manipulovania so vzorkami alebo znehodnotenia reagensí. V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Vzorové dáta slúžia iba k informačným účelom. Výsledky získané v jednotlivých laboratóriách sa môžu líšiť.

Citlivosť

Analytická citlivosť: 0,27 ng/ml

Funkčná citlivosť: 0,31 ng/ml

Špecifita

1 µg/skúmavku nasledujúcich peptidov dáva výsledky <3 ng/ml: hIGFBP-1 (prečistený z plodovej vody), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Presnosť

Intra-assay

Vzorky boli analyzované 20x v jednom stanovení. Hodnota variačného koeficientu bola menšia alebo rovná 4,4 %.

Inter-assay

Vzorky boli analyzované v duplikátoch v 15 nezávislých analýzach. Hodnota variačného koeficientu bola menšia alebo rovná 13,5 %.

Správnosť

Test riedenia

Vzorky s vysokou koncentráciou boli postupne riedené a analyzované. Namerané hodnoty „recovery“ sa pohybovali v rozmedzí 82,3 % až 120 %.

Test „recovery“

Ku vzorkám s nízkou hladinou IGFBP-3 boli pridané rôzne známe množstvá IGFBP-3 a vzorky boli analyzované. Namerané hodnoty „recovery“ sa pohybovali v rozmedzí 80,1 % až 116 %.

Rozsah stanovenia (od analytickej citlivosti do najvyššieho kalibrátora): 0,27 do približne 100 ng/ml.

OBMEDZENIA

- Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom.
- Nedostatočné osušenie skúmaviek po dekantácii môže viesť k nepresným výsledkom.
- Výsledky stanovení by mali byť interpretované v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.
- Neodporúčajú sa použiť plazmy (EDTA, heparín).

Vzorky séra, obsahujúce proteázu, štepica IGFBP-3, môžu obsahovať imunoreaktívne fragmenty IGFBP-3. Takéto vzorky je treba pred stanovením intaktnej molekuly IGFBP-3 upraviť pomocou „size exclusion“ chromatografie [3].

- Vyhnite sa opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu reagensí a vzoriek.
- Nepoužívajte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.
- U stanovení využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v pacientovej vzorke. Pacienti, ktorí boli pravidelne v styku so zvieratami alebo podstúpili imunoterapiu alebo diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky ako napríklad HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - ľudské protilátky proti myším proteínom), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach. Takéto interferujúce protilátky môžu viesť k chybným výsledkom. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatrnosťou.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

사람의 혈청 중의 IGFBP-3의 시험관 내 측정을 위한 방사선 면역 측정법 체외 진단용 검사

원리

Insulin-like growth factor binding protein 3(IGFBP-3)의 면역방사계수 측정법(IRMA)은 샌드위치 유형의 분석이다. 본 키트에는 염소 다클론성 항체를 사용하였다 [1]. 검체나 표준액은 125I로 표지된 액체인 제 2 다클론성 항체와 첫 번째 다클론성 항체로 미리 피복된 시험관 내에서 배양된다. 배양 후, 결합되지 않은 시약은 세척과정을 통해 제거된다. 튜브에 결합된 항 IGFBP-3의 양은 검체 중의 IGFBP-3의 농도와 비례한다. 검체의 IGFBP-3 농도는 표준곡선으로부터의 내삽에 의해 측정된다.

실험에 관한 요약과 설명은 “APPENDIX(부록)을 참고하세요.

경고 및 주의 사항

일반적인 주의

- 체외 진단용으로 사용됩니다.
- 표준액과 정도관리용액은 증발을 막기 위해 가능한 짧게 개봉해야 한다.
- 상이한 lot의 kit들을 서로 섞지 않는다.
- 유효기간이 지난 어떠한 구성물을 사용하지 않는다.
- 각 측정마다 새로운 표준 곡선이 필요하다.
- 2번의 반복 측정이 권장된다.
- 표준액과 정도관리용액은 사용전에 휘젓기보다는 부드럽게 저어준다.

방사선 안전에 대한 기본 규칙

방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 기본 규칙에 대한 업수는 충분한 보호를 제공한다. 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.

- 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.
- 방사성 용액을 입으로 pipetting 하지 않도록 한다.
- 장갑과 실험복을 착용하여 방사성 물질에 대한 모든 접촉을 피하여라.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.
- 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.
- 오염이 되기 쉬운 실험실 장비와 우리제품은 다른 종류의 방사성 동위원소와의 교차오염의 예방을 위해 분리 보관되어야 한다.
- 모든 경우의 방사성 오염이나 방사성 물질의 분실은 규정된 절차에 의해 해결되어야만 한다
- 방사성 폐기물은 사용되는 국가에서 규정한 규제에 따라 처리되어야만 한다.

아지드화 나트륨


어떤 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 납, 구리, 황동과 폭발성 오오드화 금속의 형태를 띠는 반응을 일으킬 수 있다. 시약은 많은 양의 물로 씻어내어 배관계통을 통해 처분하라 [2].

사람 기원 물질

모든 혈액 검체는 질병을 전염시키는 것으로(예를 들면 간염이나 AIDS) 취급하라.

Material Safety Data Sheet(MSDS)는 요청하면 가능하다.

GHS 유해물질 등급

Calibrators/Controls	경고
	
H317	알레르기 피부 반응을 일으킬 수 있음.
H412	장기적인 효과에 의해 수생생물에게 유해함.
P273	환경으로 배출하지 마십시오.

P280	보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.
P333+P313	피부 자극 또는 홍반이 발생한 경우: 의학적 조언/관리를 받으십시오.
P362+P364	오염된 의복을 벗고 사용 전에 세탁하십시오. 반응 질량: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC# 247-500-7] 및 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC# 220-239-6](3:1) <0.05 %

SDS 안전보건자료는 techdocs.beckmancoulter.com에서 확인할 수 있습니다

포본 채집, 처리, 보관 및 회석

- 혈청은 sample형태를 추천한다. 헤파린화 된 혈장이나EDTA 혈장은 사용하지 않는다.
- 원심분리 전에 혈청 검체를 완전히 응고시키십시오.
- 회석되지 않은 검체는 2~8°C에서 48시간 저장해야 하고 -20°C에서 8주간 보관 가능하다. 측정을 위해 회석된 검체는 2~8°C에서 24시간 저장해야 하고 -20°C에서 4주간 보관 가능하다. 검체는 실온에서 해동시킨다.
- 전형적인 혈청 검체는 검사 전에 IGFBP-3 0번 표준액으로 100배 희석해야 한다. 매우 낮은 값으로 알고있는 검체는 0번 표준액으로 50배 희석한다.
- 만약 검체 농도가 최고 표준액보다 높게 나오면, zero 표준액으로 적절하게 희석해야 한다.

목적

소듐 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH 자료: 폭발성 아자이드 유해물질) (1976/08/16)을 참조하십시오. 아지드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 회석되지 않은 시약을 폐기할 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소듐 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

제공되는 품목

Kit내의 모든 시약은 2~8°C에 저장하면 Kit label에 표기된 유효기간까지 안정하다. 구성 바이알에 표기된 온도와 유효기간은 제조사를 위한 표기이니, 참고하지 마십시오.

재구성이나 회석된 시약의 저장 조건은 검사 절차에 명시되어 있다

Anti-IGFBP-3 항체로 피복된 시험관: 2 x 50 tubes (즉시사용가능)

각 플라스틱 시험관에 염소-anti IGFBP-3 다클론 면역 글로블린이 고정되어 있다.

125I-표지 Anti-IGFBP-3 tracer (노란색): 22Ml vial 1개 (즉시사용가능)

제조 당시, vial은 소혈청 알부민, 아지드화 나트륨(<0.1 %)과 염색제를 포함한 완충액 내에 125I-염소-anti-IGFBP-3 다클론성 항체 370kBq(<10 µCi)를 담고 있다.

표준액: 55Ml 0번 표준액 1개(즉시 사용가능) 와 표준액 5 개 (1-5) (동결건조 상태)

Vial은 단백질(BSA)과 ProClin 300과 함께 0에서 대략 100 ng/mL의 IGFBP-3를 포함하고 있다. 정확한 농도는 각각의 vial에 표기되어 있다. 재구성할 양은 각 vial에 표기되어 있다. 재구성 후, 표준액은 2-8°C에서 48시간 보관가능하고 -20°C 이하에서 2주간 보관 가능하다. 장기관 보관은 추천하지 않는다. 표준용액은 내부 표준 시료로 확인된 것이다.

Zero 표준액은 별도 구매가능하다.(cat. #A99225).

정도관리용액: 2 vials (1,2) (동결건조 상태).

Vial은 단백질(BSA)과 ProClin 300과 함께 IGFBP-3를 포함하고 있다. 재구성할 양은 각 vial에 표기되어 있고 재구성 한 후 농도범위는 보충자료에 나와 있다. 재구성한 후 정도관리용액은 2-8°C에서 48시간 보관가능하고 -20°C 이하에서 2주간 보관 가능하다. 장기관 보관은 추천하지 않는다.

필요하지만 제공되지 않는 품목

표준적인 실험실 기기에 부가하여 아래의 항목들이 요구된다.

- 12 X 75mm 시험관 튜브
- 12 X 75mm 튜브용 랙

- 정밀 micropipet (10 µL, 50 µL와 1.0 mL)
- 반 자동 pipet (200 µL, 3.0 mL)
≥ 180rpm shaker
- Vortex형 믹서
- 스폰지 랙 또는 경사법을 위한 비슷한 장치, 흡입용 system
- 흡입용 물질
- 125I를 위한 gamma counter
- log-log 그래프 용지 또는 IRMA 데이터용 컴퓨터 프로그램

절차

시약의 준비

모든 시약들이 실온에 이르게 하고, 사용 전에 부드럽게 혼합한다.

표준액과 정도관리용액의 재구성

vial의 내용물은 vial label에 표기된 종류로 재구성 한다. 재구성 한 후 10분 정도 기다리고 거품생성 방지를 위해 분배하기 전에 조심스럽게 섞어준다.

검체의 희석

사람 혈청 검체는 검사 전에 IGFBP-3 0번 표준액으로 100배 희석해야 한다.(예: 10 µL 혈청 + 1.0 mL 0번 표준액). IGFBP-3의 농도가 매우 낮은 값으로 알고있는 사람 혈청 검체는 0번 표준액으로 검사 전에 50배 희석한다.(예: 10 µL 혈청 + 500 µL 0번 표준액).

표준액과 정도관리용액은 희석하지 않는다. 정도관리 결과에 희석 배수를 곱해주지 않는다.

측정 순서

pipeting하기 전에 모든 시약을 실온에 가져온다.

표준액, 정도관리용액, 검체는 2 번 반복 측정한다.

1단계 첨가*	2단계 배양	3단계 계수
혈청 검체를 0번 표준액으로 100배 희석한다.	실온에서(18 - 25°C) 하룻밤동안 (18 24시간) ≥180rpm으로 shaking 하며 incubation한다.	3.0 mL의 탈이온수를 모든 시험관에 첨가한다.(총계수를 시험관 제외) 모든 시험관의 내용물을 스폰지랙에 뒤집어 방사성 폐기물관에 버리고 내용물을 흡입한다.(총계수를 시험관 제외) 세척과정을 2번 반복한다.(총 3번)
항체로 피복된 시험관에 차례대로 분배한다:	모든 시험관의 내용물을 스폰지랙에 뒤집어 방사성 폐기물관에 버리고 내용물을 흡입한다.(총계수를 시험관 제외)	결합 CPM(B)과 총 CPM(T)을 1분 동안 count한다.
50 µL 의 표준액, 정도관리용액 또는 희석된 검체, 200 µL 의 트레이서 부드럽게 혼합한다.	완전히 건조되게 하기 위해 흡착제이 튜브를 1~2초간 두들긴다.	

* 총 cpm을 얻기 위한 2개의 시험관에 tracer 200µL를 첨가한다.

결과

결과값은 표준곡선의 내삽으로부터 계산한다. 표준곡선은 standard와 동시에 측정된 검체 내의 IGFBP-3 농도를 결정하는 데 사용될 수 있다.

표준곡선

정도관리 부서의 결과는 대수 수직 축에 결정된 방사능($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$)이 있고 대수 수평 축에 교정물질의 분석물질 농도(ng/mL)가 있는 스폰지랙 곡선 맞춤을 사용하여 산출되었습니다.

다른 데이터의 공제 방법은 다른 결과값을 보여줄 수 있다.

Total activity: 146,587 cpm				
Calibrators	IGFBP-3 (ng/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	1,295	-	-
1	2.3	4,252	2.05	2,957
2	5.7	8,386	4.95	7,091
3	28.0	24,623	16.20	23,328
4	60.0	46,272	31.20	44,977
5	120.0	79,597	54.30	78,302

(표준곡선의 예, 결과값에는 적용하지 마십시오.)

검체

각 검체별로 세로 축에서 cpm 또는 B/T 값을 찾은 다음 가로 축에서 해당하는 분석물질 농도를 읽습니다.

검체 결과에 희석 계수(예: 100)를 곱합니다.

결과는 글리코실화되지 않은 기준에 맞는 분자 단위에 준하여 nmol/L로 전환할 수 있다.(28.75kDa). ng/mL에서 nmol/L로 전환하기 위해서는 0.035 를 곱해준다.

기대값

각 검사마다 각자의 참고값을 설정하기를 권장한다. 아래 표와 부록에 나온 자료는 여러 기관의 연구를 통해 얻어진 것이다. 아래 표는 소아과의 보통의 키와 성장패턴을 가진 아이들을 통해 얻은 값들이다.

연령 (세)	N	평균 (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Absolute range (ng/mL)
0 - 1	49	1,965	548	1,990	1,030 - 3,090
1 - 2	42	2,154	649	2,080	1,100 - 3,620
2 - 3	28	2,231	605	2,140	1,200 - 3,990
3 - 4	18	2,312	786	2,120	1,400 - 4,250
4 - 5	23	2,363	459	2,290	1,630 - 3,150
5 - 6	19	2,676	553	2,720	2,000 - 4,230
6 - 7	22	2,924	617	2,990	2,000 - 4,210

(더 자세한 사항은 "APPENDIX"를 참고하세요)

정도관리

좋은 실험 실습은 control 검체가 결과값의 질을 향상시켜주는데 이용되는 것을 내포한다. 검체들은 측정 검체와 같은 방법으로 처리되어야 하며 적절한 통계방법에 의해서 분석되어진 결과값이 권장된다.

정도관리용액의 결과값에 이상이 있는 것은 정밀하지 못한 조작법이나 검체 처리에 이상이 있거나 시약의 품질이 저하된 것을 나타낼 수 있다. 만약 포장에 이상이 있거나 결과값에 문제가 있으면, 공급업체나 다음의 메일로 연락주시기 바랍니다 : imunochem@beckman.com

성능 특성

(더 자세한 사항은 "APPENDIX"를 참고하세요)

제시된 자료는 예시 참고용입니다. 각 실험실의 결과들은 다를 수 있습니다.

민감도

분석적 민감도: 0.27 ng/mL

기능적 민감도: 0.31 ng/mL

특이도

다음의 peptide 호르몬의 1 µg/tube는 <3 ng/mL 농도를 나타낸다. hIGFBP-1 (purified, amniotic fluid), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

정밀성

측정내

검체들은 같은 종류로 20번 측정된다. 변이계수는 4.4 %나 그 이하에서 보여진다.

측정간

혈청 검체들은 15가지의 다른 종류로 2번 반복 측정된다. 변이계수는 13.5 %나 그 이하에서 보여진다.

정확성

희석 검사

검체 5개를 zero calibrator로 연속적으로 희석하였다. 회수율 비율은 82.3 ~ 120 % 사이 이었다.

회수율 검사

정량의 IFGBP-3 이 농도가 낮은 검체에 첨가되었다. 회수율 비율은 80.1 ~ 116 %사이였다.

측정범위 (분석적 민감도부터 최고 표준농도까지) 0.27 에서 대략 100.0 ng/mL.

한계

- 이 사용설명서를 준수하지 아니하면 결과에 크게 영향을 미칠 것이다.
- 튜브를 비운후에 적절하게 튜브를 닦아내지 않는 경우 수치가 잘 반복되지 않거나 잘못된 수치가 나올 수 있습니다.
- 결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.
- EDTA 또는 헤파린화된 혈장은 추천하지 않는다.

IGFBP-3 포로테아제 활동을 가진 혈청은 면역반응하는IGFBP-3 분자를 가지고 있을 수 있다. 이러한 검체에서 intact IGFBP-3 측정을 하려면 미리 size-exclusion chromatography가 필요하다 [3].

- 키트 안에 제공되는 시약이나 검체를 반복해서 냉동하거나 해동하지 않는다.
 - 용혈된 검체나 고지혈증, 항달이 있는 검체의 사용은 피한다.
 - 본 검사에 사용되는 항체는 환자 검체의 헤테로필릭 항체의 간섭을 받을 수 있다. 정기적으로 동물에 노출되거나 면역치료 또는 항체를 생산할 수 있는 면역글로불린(예: HAMMA)을 이용하는 진단 검사를 받은 환자는 면역검사에 간섭을 받을 수 있다
-

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

İNSAN SERUMUNDA IGFBP-3'ÜN KANTİTATİF ÖLÇÜMÜ İÇİN İMMUNORADİOMETRİK KİT BU TEST SADECE IN VITRO TANI AMAÇLI KULLANIM İÇİNDİR

PRENSİP

Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3)'ün iki-yönlü immunoradiometrik testi (IRMA), sandwich-tipi bir deneydir [1]. Kit içinde, keçi poliklonal antikorları kullanılmıştır. Numuneler ve kalibratörler, bir poliklonal antikor kaplanmış tüplerde ve ¹²⁵I-ışaretlenmiş poliklonal antikorla inkübe edilirler. Inkübasyondan sonra, bağlanmamış reaktifler, tüpler yıkanarak uzaklaştırılırlar. Tüplere bağlanmış ¹²⁵I-ışaretlenmiş anti-IGFBP-3 miktarı, numune içindeki IGFBP-3 yoğunluğu ile doğru orantılıdır. Bir standard eğrisi oluşturulur ve bilinmeyen IGFBP-3 değerleri interpolasyon yöntemiyle eğriden tespit edilirler.

Testin Özeti ve Açıklaması için APPENDIX-EK'e bakınız.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

Genel yorumlar:

- *In vitro* diagnostik kullanım içindir.
- Kalibratör ve kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca kısa süreli açık kalmalıdır.
- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Hiçbir bileşeni etiketinde gösterilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Testi duplike olarak çalışmak önerilmektedir.
- Kalibratörler ve kontroller kullanılmadan önce elde çevirerek karıştırılmalıdır, vorteklemek önerilmez.

Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Radyasyon güvenliği için temel kurallar Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir. Radyasyon güvenliğinin temel kurallarına bağlı kalınması, yeterli korumayı sağlayacaktır.

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Ağızla pipetleme yapılmamalıdır.
- Radyoaktif maddelerle temastan kaçınmak için eldiven ya da laboratuvar önlüğü kullanın.
- Radyoaktif maddelerle ilgili tüm işlemler, koridorlardan ve diğer işlek bölümlerden uzakta, uygun bir yerde yapılmalıdır.
- Radyoaktif materyaller, bu malzemeler için ayrılmış bir bölümde ve kapalı bir dolapta saklanmalıdır.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme kayıp vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözümlenmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya pirinç ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir [2].

İnsan kaynaklı materyal

Bütün serum, hepatitler ve AIDS'i geçirebilecek gibi işlem yapılmalıdır. Atıklar, ülkenin kurallarına göre yok edilmelidir.

Malzeme Güvenlik Veri Formu (MSDS) istek üzerine sağlanabilir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Calibrators/Controls

UYARI



H317

Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açabilir.

H412

Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

P273

Çevreye verilmesinden kaçınınız.

P280

Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P333+P313

Cilt tahrişi veya kızarıklık oluşması halinde: Tıbbi yardım/müdahale alın.

P362+P364

Kirlenmiş giysinizi çıkarın ve kullanmadan önce su yıkayın.

reaksiyon kütleleri:
5-kloro-2-metil-4-izotiazolin-3-one [EC# 247-500-7] ve
2-metil-4-izotiazolin-3-one [EC# 220-239-6] (3:1)
<%0,05

SDS

Güvenlik Bilgi Formuna techdocs.beckmancoulter.com adresinden ulaşılabilir

NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

- Serum, önerilen numune tipidir. Heparinize veya EDTA'lı plazma kullanmayınız.
- Santrifüj öncesinde serum örneklerinin tamamen pıhtılaşmasını bekleyin.
- Dilüe edilmemiş numuneler 2-8°C'de 48 saat veya < -20°C'de 8 haftaya kadar saklanabilir. Test için dilüe edilmiş numuneler (Prosedür bakınız) 2-8°C'de 24 saat veya < -20°C'de 4 haftaya kadar saklanabilir. Numunelerin buzu oda ısısında çözündürülmelidir.
- Tipik serum numuneleri testten önce 1:100 oranında IGFBP-3 sıfır kalibratörü ile dilüe edilmelidir. Değeri düşük olduğu bilinen veya beklenen numuneler, testten önce 1:50 IGFBP-3 sıfır kalibratör ile dilüe edilmelidir.
- En yüksek kalibratörün konsantrasyonundan daha yüksek okumalar IGFBP-3 sıfır kalibratör ile dilüe edilerek test tekrar edilmelidir.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH Bülteni: Patlayıcı Azid Tehlikesi (16.08.1976)) belgesine bakın. Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktif boşalttıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre bertaraf edilmelidir.

SAĞLANAN MALZEMELER

2-8°C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir.

Açılmış reaktifler için saklama koşulları, ilgili paragraflarda belirtilmiştir.

Anti-IGFBP-3 antikor kaplanmış tüpler: 2 x 50 tüp (kullanıma hazır)

İç duvarları keçi-anti IGFBP-3 poliklonal immunoglobulin sabitlanmış plastik tüpler.

125I-ışaretlenmiş anti-IGFBP-3 tracer (SARI): 22 mL bir şişe (kullanma kılavuzu)

Üretim tarihinde şişe, sodyum asit (<%0,1) boya ve protein içeren tampon içinde 370 kBq (<10 µCi) ¹²⁵I-ışaretlenmiş keçi-anti-IGFBP-3 içerir.

Kalibratörler: 0 etiketlenmiş 55 mL bir şişe (kullanıma hazır) ve 1-5 etiketlenmiş beş şişe (liyofilize)

Kalibratör şişeleri, ProClin 300 ve protein içeren tampon içinde 0 ile yaklaşık 100 ng/mL arasında IGFBP-3 içerir. Tam konsantrasyon, her bir şişenin üzerindeki etikette belirtilmiştir. Kalibratörler, bir internal referans standardına göre doğrulanmıştır. Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda distile su ile sulandırılmalıdır. Çözüldükten sonra, 2-8°C'de 48 saate kadar veya < -20°C'de 2 haftaya kadar saklanabilir. Daha uzun süre saklanması önerilmemektedir.

Sıfır kalibratör istek üzerine sağlanabilir (Kat. No A99225).

Kontroller: 1, 2 etiketlenmiş iki şişe (liyofilize)

Şişeler, ProClin 300 ve protein içeren tampon içinde IGFBP-3 içerir. Beklenen değerler, kit içinde sağlanan ekte belirtilmiştir. Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda distile su ile sulandırılmalıdır. Çözüldükten sonra kontroller, 2-8°C'de 48 saate kadar veya < -20°C'de 2 haftaya kadar saklanabilir. Daha uzun süre saklanması önerilmez.

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

Standard laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- 12 x 75 mm polistiren boş test tüpleri.
- 12 x 75 mm tüpler için rack.
- Hassas mikropipetler (10 µL, 50 µL ve 1,0 mL).
- Yarı-otomatik pipetler (200 µL, 3,0 mL).
- ≥ 180 rpm hızında çalkalayıcı.
- Vorteks tipi mikser.
- Tüpleri boşaltmak için süngerli rack veya benzer bir gereç veya aspirasyon sistemi.
- Tüplerin içini kurutmak için kağıt havlu
- 125 iyot için gamma counter seti.
- Log-log grafik kağıdı veya IRMA veri analizi için bilgisayar programı.

PROSEDÜR

Reaktiflerin hazırlanması

Kullanmadan önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz ve yavaşça çevirerek karıştırınız.

Kalibratör ve kontrol numunelerinin çözülmesi

Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda distile su ile sulandırılmalıdır. Çözüldükten sonra 10 dakika bekleyiniz ve köpüklenmeden, yavaşça karıştırınız.

Numunelerin dilüsyonu

İnsan serum numunelerini testten önce, 1:100 oranında IGFBP-3 sıfır kalibratörü ile dilüe ediniz. (örnek: 10 µL serum + 1,0 mL ZERO (sıfır) kalibratör). Değeri düşük olduğu bilinen veya beklenen numuneleri, testten önce 1:50 IGFBP-3 sıfır kalibratör ile dilüe ediniz. (Örnek: 10 µL serum + 500 µL sıfır kalibratör).

Not: IGFBP-3 Kontrol veya Kalibratörlerini dilüe etmeyiniz. Kontrol sonuçlarını numune dilüsyon faktörü ile çarpmayınız.

Test prosedürü

Pipetlemeden önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Kalibratörler, Kontrol ve hasta numunelerini duplike olarak çalışınız.

Aşama 1 Eklemler*	Aşama 2 Inkübasyon	Aşama 3 Sayım
İnsan serum numunelerini 1:100 oranında sıfır kalibratör ile dilüe ediniz.	≥180 rpm'ye ayarlı shaker üzerinde, oda ısısında (18 - 25°C) gecelik inkübasyona (18-24 saat) alınız.	Bütün tüplere («total sayım/dak» tüpleri hariç) 3,0 mL distile su ekleyiniz, Sünger rack'taki tüpleri, radyoaktif atık kabına ters çevirerek aynı anda boşaltınız veya aspire ediniz («total sayım/dak» tüpleri hariç).
Antikor eklenmiş tüplere dikkatlice ekleyiniz:	Sünger rack'taki tüpleri, radyoaktif atık kabına ters çevirerek aynı anda boşaltınız veya aspire ediniz («total sayım/dak» tüpleri hariç).	Yıkama safhalarını 2 kez tekrar ediniz (Toplam 3 yıkama için).
50 µL kalibratör, kontrol veya numune, Hemen 200 µL tracer ekleyiniz.	Tüpleri kağıt havlu üzerine ters çevirerek sertçe vurunuz ve 1-2 dakika bekleterek tüpleri kurutunuz.	Bağlı sayım/dak (B) ve total sayım/dak'yi (T) 1 dakika sayınız.
Hafifçe vorteksleyin.		

* 2 ek Total sayım/dak tüpüne 200 µL tracer ekleyiniz.

SONUÇLAR

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki IGFBP-3 konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

Standard eğrisi

Kalite kontrol bölümündeki sonuçlar, log dikey ekseninde belirlenmiş radyoaktivite ($sayım/dak_{Kal} - sayım/dak_{Kalo}$) ve log yatay ekseninde kalibratörlerin analit konsantrasyonu (ng/mL) ile *spline* eğri uyurma kullanılarak hesaplanmıştır.

Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

Total aktivite: 146.587 sayım/dak				
Kalibratörler	IGFBP-3 (ng/mL)	sayım/dak (n=2)	B/T (%)	sayım/dak _{Kal} - sayım/dak _{Kalo}
0	0	1.295	-	-
1	2,3	4.252	2,05	2.957
2	5,7	8.386	4,95	7.091
3	28,0	24.623	16,20	23.328
4	60,0	46.272	31,20	44.977
5	120,0	79.597	54,30	78.302

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

Numuneler

Her örnek için dikey ekseninde sayım/dak'ı veya B/T değerini bulun ve karşılık gelen analit konsantrasyonunu yatay ekseninde okuyun.

Örnek sonuçlarını dilüsyon faktörüyle çarpın (ör. 100).

Sonuçlar, glikozile-olmayan referans standardının moleküler ağırlığına bağlı olarak (28.74 kDa) nmol/L'ye dönüştürülebilir. Konsantrasyonları ng/mL'den nmol/L'e dönüştürmek için sonuçları 0.035 ile çarpınız.

BEKLENEN DEĞERLER

Her laboratuvar kendi referans sınırlarını belirlemelidir. Aşağıdaki ekte veriler çok-merkezli çalışmalardan elde edilmiştir. Aşağıdaki tabloda yer alan pediatrik veriler, normal boy ve büyüme özelliği gösteren çocuklar içindir.

Yaş (yıl)	N	Ortalama (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Sınır değerleri (ng/mL)
0 - 1	49	1.965	548	1.990	1.030 - 3.090
1 - 2	42	2.154	649	2.080	1.100 - 3.620
2 - 3	28	2.231	605	2.140	1.200 - 3.990
3 - 4	18	2.312	786	2.120	1.400 - 4.250
4 - 5	23	2.363	459	2.290	1.630 - 3.150
5 - 6	19	2.676	553	2.720	2.000 - 4.230
6 - 7	22	2.924	617	2.990	2.000 - 4.210

(Daha fazla bilgi için APPENDIX-EK'e bakınız)

KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Kontrollerden, beklenen sonuçların alınamaması, hatalı manipülasyon, numunenin hazırlanmasındaki hata veya reaktiflerin bozulmasından kaynaklanabilir. Paketteki bozulma veya alınan verilerde değişiklik olduğu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya aşağıdaki e-mail adresini kullanınız: imunochem@beckman.com

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız)

Temsili veriler yalnızca örnek olarak verilmiştir. Her bir laboratuvar elde edilen performans farklılık gösterebilir.

Duyarlılık

Analitik duyarlılık: 0,27 ng/mL

Fonksiyonel duyarlılık: 0,31 ng/mL

Özgüllük

Aşağıdaki peptid hormonlarının 1 µg/tüp miktarı <3 ng/mL konsantrasyon verdi: hIGFBP-1 (purifiye, amniyotik sıvı), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Kesinlik

Deney-içi

Numuneler aynı çalışma içinde 20 kez test edildi. Değişkenlik katsayısı ≤ % 4.4 idi.

Testler arası

Numuneler 15 farklı çalışmada duplike olarak test edildi. Değişkenlik katsayısı ≤ % 13.5 idi.

Doğruluk

Dilüsyon testi

Serum sıfır kalibratör ile seri olarak dilüe edildi. Düzeltme oranı % 82,3 ile % 120 arasında değişti.

Düzeltilme testi

Düşük yoğunluklu serum numunelerine bilinen miktarda IGFBP-3 eklendi. Düzeltme oranı % 80,1 ile % 116 arasında değişti.

Ölçüm sınırları (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar): 0.27 ile yaklaşık 100,0 ng/mL.

SINIRLAMALAR

- Bu kullanma kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin bir şekilde etkileyebilir.
- Tüplerin boşaltıldıktan sonra iyi kurutulmaması, zayıf replikasyon ve hatalı sonuçlara neden olabilir.
- Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yer aldığı hastanın toplam klinik durumu ışığında değerlendirilmelidir.
- EDTA veya heparinli plazma kullanılması önerilmemektedir. IGFBP-3 proteaz aktivitesi içeren serumlar immunoreaktif IGFBP-3 fragmanları içerebilir. Bu numunelerdeki intact IGFBP-3'ün ölçümü için ön işlem kromatografisi gerekebilir [3].
- Reaktifler ve numunelerin dondurulma ve çözme işleminin tekrarından kaçınınız.
- Çok hemolizli, sararmış ve lipemik numuneleri kullanmayınız.
- Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılığı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immunoterapi gören veya ör.HAMA gibi immunoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya immunoglobulin fragmanlarının kullanıldığı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir. Bu gibi etkileşim gösteren antikorlar yanlış sonuçlara neden olabilir. Bu tür antikorları taşıdığından şüphelenilen hasta sonuçlarını dikkatli bir şekilde değerlendiriniz.

Active® IGFBP-3 IRMA

REF DSL6600

НАБОР ДЛЯ ИММУНОРАДИОМЕТРИЧЕСКОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКА-3, СВЯЗЫВАЮЩЕГО ИНСУЛИНОПОДОБНЫЙ ФАКТОР РОСТА (IGFBP-3), В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ IN VITRO ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

ПРИНЦИП

Иммунорадиометрическое определение белка-3, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3) относится к анализам типа «сэндвич» [1]. В наборе используется козы поликлональные антитела. Исследуемые образцы, контрольные и калибровочные пробы инкубируют в пробирках, покрытых одним видом поликлональных антител, совместно с раствором других поликлональных антител, меченых 125I. После окончания инкубации удаляют жидкое содержимое, промывают пробирки и измеряют связанную активность 125I. Концентрацию IGFBP-3, прямо пропорциональную связанной активности, определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

Теория и трактовка теста приведены в разделе «APPENDIX».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Общие замечания:

- Для диагностики *in vitro*.
- Флаконы с калибровочными и контрольными пробами следует держать открытыми в течение как можно более короткого промежутка времени с тем, чтобы предотвратить испарение воды.
- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Не используйте реагенты после окончания срока годности, указанного на этикетке.
- Анализ калибровочных и исследуемых проб должен проводиться одновременно.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Калибраторы и контрольные образцы следует тщательно перемешать, осторожно переворачивая или покачивая флаконы. Не использовать вихревой встряхиватель.

Основные правила радиационной безопасности

Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.

- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
- Не пипетировать ртом.
- Используйте перчатки и лабораторный халат во избежание контакта с радиоактивными материалами.
- Любое обращение с радиоактивными веществами осуществляют в подходящем местоположении, вдали от проходов и других оживленных зон.
- Радиоактивные вещества следует хранить с использованием контейнеров в специально отведенных для этого местах.
- Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
- Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
- Любой случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.
- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

Азид натрия

Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латунью, азид


натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию [2].

Материал человеческого происхождения

С исследуемыми образцами сыворотки крови следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом, могущим содержать вирусы СПИД и гепатита. Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

Лист данных о безопасности материалов (MSDS) предоставляется по требованию.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Calibrators/Controls	ОСТОРОЖНО!
	
H317	Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
H412	Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.
P273	Не допускать попадания в окружающую среду.
P280	Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.
P333+P313	При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.
P362+P364	Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием. реакционная смесь из 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин -3-он [EC № 247-500-7] и 2-метил-4-изотиазолин -3-он [EC № 220-239-6](3:1) <0,05%



Паспорт безопасности доступен на сайте techdocs.beckmancoulter.com

ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Рекомендованный тип образца сыворотки. Не рекомендуется использование плазмы с ЭДТА или с гепарином.
- Дождитесь полного свертывания образцов крови перед центрифугированием.
- Неразведенные образцы сыворотки можно хранить при 2-8°C в течение 48 часов или разделить на аликвоты и заморозить при температуре < -20°C до 8 недель. Образцы разведенные для анализа (см. Процедура) можно хранить при 2-8°C до 24 часов или при < -20°C до 4 недель. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.
- Обычно образцы сыворотки разводятся 1:100 «нулевым» калибратором IGFBP-3 перед проведением анализа. Образцы с известной или ожидаемой очень низкой концентрацией IGFBP-3 следует развести 1:50.
- Образцы, результаты которых превышают значение самого высокого калибратора, следует дополнительно развести «нулевым» калибратором IGFBP-3 и исследовать повторно.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азид натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре.

См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH) «Взрывоопасные азиды (16.08.76)». Во избежание накопления азидных соединений промыть сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азидов натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

Условия хранения после растворения реагентов указаны в соответствующих разделах.

Пробирки, покрытые моноклональными антителами к IGFBP-3: 2 x 50 шт (готовы к использованию)

Пластиковые пробирки, на внутренней поверхности которых иммобилизованы козы поликлональные иммуноглобулины к IGFBP-3.

Метка, 125I- меченые антитела к IGFBP-3 (ЖЕЛТЫЙ): 1 флакон, 22 мл (готова к использованию)

На дату изготовления флакон содержит 370 кБк (<10 µCi), меченых 125I козы поликлональных антител к IGFBP-3 в буфере с белком (BCA), азидом натрия (<0,1%) и красителем.

Калибровочные пробы: 1 флакон 55 мл (0) (готова к использованию) + 5 флаконов (1 - 5) (лиофилизированные препараты)

Калибровочные пробы содержат IGFBP-3 в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 100 нг/мл в буфере с белком (BCA) и ProClin 300. Точные концентрации, указаны на этикетках флаконов. Значения калибровочных проб были получены с помощью внутреннего стандарта. Растворить содержимое флаконов 1-5 в указанном на этикетке объеме дистиллированной воды. Растворенные калибровочные пробы можно хранить при 2-8°C до 48 часов или при -20°C в течение 2 недель. Более длительное хранение не рекомендуется.

«Нулевую» калибровочную пробу можно также заказать отдельно (кат. № A99225).

Контрольная сыворотка: 2 флакона (1, 2) (лиофилизированные)

Флаконы содержат IGFBP-3 в буфере с белком (BCA) и ProClin 300. Ожидаемые диапазоны концентраций указаны на дополнительном листке-вкладыше. Растворить содержимое флаконов 1,2 в указанном на этикетке объеме дистиллированной воды. Растворенные контрольные пробы можно хранить при 2-8°C до 48 часов, или при -20°C в течение 2 недель. Более длительное хранение не рекомендуется.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- полистероловые пробирки 12x75 мм
- штативы для пробирок 12 x 75 мм.
- микропипетки (10 мкл, 50 мкл, 1,0 мл)
- полуавтоматические пипетки (200 мкл, 3,0 мл) всряхиватель (≥ 180 осц/мин)
- вихревой смеситель типа vortex
- штатив из губки или аналогичное устройство для удаления содержимого пробирок или водоструйный насос
- фильтровальная бумага для просушивания пробирок
- гамма-счетчик для измерения активности ¹²⁵I.
- лог-логарифмическая бумага или соответствующее программное обеспечение для компьютера для IRMA обсчета

ПРОЦЕДУРА

Подготовка реагентов

Довести все реагенты до комнатной температуры тщательно перемешать, осторожно переворачивая или покачивая флаконы.

Растворение калибровочных и контрольных проб

Растворить содержимое флаконов в указанном на этикетке объеме дистиллированной воды. Через 10 минут аккуратно перемешать, избегая образования пены.

Разведение образцов

Разведите образцы сыворотки 1:100 «нулевым» калибратором IGFBP-3 перед исследованием (например: 10 мкл сыворотки + 1,0 мл «нулевого» калибратора). Разведите образцы с известной или ожидаемой очень низкой концентрацией IGFBP-3 «нулевым» калибратором 1:50 перед исследованием (например: 10 мкл сыворотки + 500 мкл «нулевого» калибратора).

Внимание: Не разводите контроли и калибраторы. Не умножайте результаты контроля на фактор разведения.

Процедура анализа

Перед использованием довести реагенты до комнатной температуры.

Анализ следует проводить в дубликатах.

Стадия 1 Внесение реагентов *	Стадия 2 Инкубация	Стадия 3 Измерение результатов
Развести исследуемые образцы 1:100 «нулевым» калибратором.	Инкубировать 18-24 часа при комнатной температуре (18 - 25°C) и постоянном встряхивании (≥ 180 осц./мин.)	Внести 3,0 мл дистиллированной воды (кроме проб «Т»). Удалить содержимое пробирок, (кроме «Т»), одновременно перевернув губчатый штатив над емкостью для радиоактивных отходов.
В покрытые антителами пробирки последовательно внести:	Удалить содержимое пробирок, (кроме «Т»), одновременно перевернув губчатый штатив над емкостью для радиоактивных отходов.	Повторить промывку не менее 2 раз (рекомендуется промывка 3 раза).
50 мкл калибровочных проб, контрольных и анализируемых образцов. Затем немедленно 200 мкл метки. Осторожно перемешивают на вортексе.	Резко стряхнуть пробирки над фильтровальной бумагой для полного удаления жидкости 1-2 минуты.	Измерить связанную (В) и общую (Т) активность 125I в течение 1 мин.

* В две дополнительные пробирки внести по 200 мкл метки для оценки общей активности ¹²⁵I.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом неизвестных образцов.

Калибровочная кривая

Результаты в отделении контроля качества рассчитаны с использованием подбора кривой «сплайн» с установленной радиоактивностью ($\text{имп/мин}_{\text{cal}} - \text{имп/мин}_{\text{cal}0}$) по логарифмической вертикальной оси и концентрацией анализа калибраторов по логарифмической горизонтальной оси (нг/мл).

Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет: 146,587 имп./мин.				
Калибраторы	IGFBP-3 (нг/мл)	Имп./ мин. (n=2)	В/Т (%)	$\text{имп/мин}_{\text{cal}} - \text{имп/мин}_{\text{cal}0}$
0	0	1 295	-	-
1	2,3	4 252	2,05	2 957
2	5,7	8 386	4,95	7 091
3	28,0	24 623	16,20	23 328
4	60,0	46 272	31,20	44 977
5	120,0	79 597	54,30	78 302

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

Образцы

Для каждой пробы определите значение имп/мин или В/Т по вертикальной оси и узнайте соответствующую концентрацию анализатора по горизонтальной оси.

Умножить результаты пробы на коэффициент разведения (напр. 100).

Результаты могут быть преобразованы в нмоль/л основываясь на молекулярном весе негликолизированного референсного стандарта (28.75 кДа). Чтобы преобразовать нг/мл в нмоль/л, необходимо результат умножить на 0,035.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные уровни IGFBP-3 соответствующие нормальным. Ниже, а также в разделе Appendix приведенные данные получены при проведении комплексных исследований. Данные для детей получены при исследовании нормально развивающихся детей.

Возраст (лет)	N	Среднее значение (нг/мл)	SD (нг/мл)	Медиана (нг/мл)	Диапазон определений (нг/мл)
0 - 1	49	1 965	548	1 990	1 030 - 3 090
1 - 2	42	2 154	649	2 080	1 100 - 3 620
2 - 3	28	2 231	605	2 140	1 200 - 3 990
3 - 4	18	2 312	786	2 120	1 400 - 4 250
4 - 5	23	2 363	459	2 290	1 630 - 3 150
5 - 6	19	2 676	553	2 720	2 000 - 4 230
6 - 7	22	2 924	617	2 990	2 000 - 4 210

(более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов.

Отклонение результатов исследования контрольных образцов от заданных значений может свидетельствовать о технических ошибках, неправильной подготовке образца или повреждении реагентов. В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам обратитесь, пожалуйста, к вашему дистрибьютору или к нашим специалистам: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(Более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Репрезентативные данные предоставлены исключительно для пояснений. Показатели, полученные в конкретной лаборатории, могут отличаться.

Чувствительность

Аналитическая чувствительность: 0,27 нг/мл

Функциональная чувствительность: 0,31 нг/мл

Специфичность

1 мкг/пробирка нижеперечисленных белков дают концентрацию <3 нг/мл: hIGFBP-1 (очищенная амниотическая жидкость), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

Воспроизводимость

Внутри анализа

Анализ образцов проводили в 20 репликатах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации измеренных уровней IGFBP-3 в сыворотке крови не превышал 4,4%.

Между анализами

Анализ образцов в дубликатах проводили в 15 различных сериях определений. Коэффициент вариации измеренных уровней IGFBP-3 в сыворотке крови не превышал 13,5%.

Точность

Тест на разведение

Величина "открытия" в серийно разведенных образцах с высокой концентрацией IGFBP-3 составила от 82,3% до 120%.

Тест на открытие стандартной добавки

В образцы с низкой концентрацией вносили известные количества IGFBP-3. Величина «открытия» составила от 80,1% до 116%.

Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы): 0,27 до приблизительно 100 нг/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Несоблюдение этих Инструкций по применению (IFU) может привести к искажению результатов исследования.
- Загрязнение пробирок при неаккуратном удалении содержимого может привести к плохой воспроизводимости и искажению результатов.
- Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию.
- Не рекомендуется использовать образцы с ЭДТА или гепаринизированную плазму.
Сыворотки, обладающие IGFBP-3 протеазной активностью могут содержать иммунореактивные фрагменты IGFBP-3. Измерение IGFBP-3 в таких образцах может потребовать предварительного проведения эксклюзионной хроматографии [3].
- Избегайте повторного замораживания и размораживания реагентов и образцов.
- Не используйте гемолизированные, желтушные или липемические образцы.
- При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа. Влияние этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

效能： 利用放射免疫分析定量測定血清中IGFBP-3 荷爾蒙

原理

免疫放射分析組是一種『三明治』[1] 分析法，利用2個直接對應IGFBP-3 分子，做法根據在一放射性放射免疫測定的基本原則和非放射性的抗原之間的競爭抗體一個固定數字的結和位置。山羊抗體進行。將檢體或是校正液加入內有以碘 125 標示的第 2 個單株抗體、以及第 1 個單株抗體附著於上的試管內培養。培養完成後，將試管內液體抽掉，然後沖洗試管來清除未結合的 125I 標記抗體。在離心法標準曲線被修建之後未結合的 125I 標記抗體在標準曲線上利用內插法可以得到檢體內IGFBP-3 濃度。

有關該測定的總結和解釋請參考“附錄”

警告和預防措施

一般注意事項：

- 體外診斷用。
- 每瓶的校正液和對照液應儘快打開以免過度揮發。
- 請勿混合不同批號之分析組試劑
- 不要使用任何組件以外的到期日期顯示在其標籤。
- 應建立各次分析的標準曲線
- 建議進行分析兩次
- 使用前，應輕輕倒轉或搖晃以混合標準品和質控品，不要渦旋混合。

放射線安全的基本原則

放線性物質的購買、擁有、利用及運送均受到使用者當地國家的法規所規範。遵循放射線安全的基本原則理應可以提供適當的保護：

- 在放射性物質的使用區域中，不可吃東西、喝飲料、抽煙或使用化妝品
- 切勿用嘴吸移液管。
- 穿戴實驗室外套和手套來避免所有放射性物質接觸。
- 應在適當的地點完成對放射性物質的所有操作，遠離走廊和其他人多的地方。
- 放射性物質應儲存於指定區域的容器中
- 所有放射性產物的接收和儲存記錄應及時更新。
- 易受污染的實驗室裝置和玻璃器皿應予以隔離，以防止不同的放射性同位素之間發生交叉感染。
- 應根據已確立的程序處理放射性污染或放射性物質丟失的個案。
- 應根據所在國家確立的原則處理放射性廢棄物。

疊氮化鈉

有些試劑中含有疊氮化鈉作為防腐劑，疊氮化鈉可能與鉛、銅或黃銅反應形成具有爆炸性的疊氮金屬物，因此在棄置時應以大量清水沖洗水管線系統[2]。

人源材料

所有血清及血漿檢體均應視為具有傳染肝炎或AIDS能力來處置，廢棄物的棄置應遵循當地法規。

物質安全資料表 (MSDS) 可根據要求提供。

GHS 危害分類

Calibrators/Controls

警告



H317

可能導致皮膚過敏反應。

H412

對水生生物有害並具有長期持續影響。

P273

避免釋放到環境中。

P280

戴防護手套、穿防護服、戴眼睛/臉部防護物品。

P333+P313

如果出現皮膚刺激問題或紅疹：請尋求醫療建議/就醫。

SDS

安全性資料表載於 techdocs.beckmancoulter.com

檢體收集、處理、儲存、以及稀釋

- 將血液收集在有或無添加劑的試管中或含有EDTA, heparine 的試管內
- 待血清檢體完全凝結，再進行離心處理。
- 未稀釋的樣品也許被存放在2-8°C 48個小時或在<-20°C 8個星期。為分析用試樣被稀釋了(的樣品參見分析用試樣做法)也許被存放在2-8°C 24個小時若需較長期儲存，請分裝後冷凍儲存低於-20°C至4個星期。檢體必需在室溫下解凍。
- 在分析用試樣之前典型的血清樣品應該與IGFBP-3零的標準液稀釋1:100在分析用試樣之前。在分析用試樣之前與非常低已知的或期待值的樣品應該是與IGFBP-3零的定標稀釋1:50。
- 若檢體濃度高於高標準值的校正液，建議以IGFBP-3空白校正液進行稀釋。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。參見 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (美國職業安全與衛生研究所公告：爆炸性疊氮化合物危害) (8/16/76)。

為防止疊氮化合物累積，處置未稀釋的試劑後必須用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規處置疊氮化鈉。

提供的材料

若將分析組的所有未開的試劑儲存於2-8°C的溫度下，則所有分析組之試劑在其標籤指明的有效期限內都可維持穩定。在配件小瓶標籤打印有效期限，僅適用於在組成套之前製造商長期儲備。一般不適用。

重新溶解後的試劑的儲存條件請參考下文中的相關說明。

IGFBP-3血清：2x50管 (現成可用)

一聚膠管來自山羊的IGFBP-3雙株抗血清著於管壁上。

125I標記的IGFBP-3 (黃色瓶)；每瓶22 mL (現成可用)

含有製造日期當時強度為370 kBq(<10uCi)的125I-山羊的IGFBP-3 雙株抗血清免疫蛋白、疊氮化鈉(<0.1%)、以及染料的緩衝液中。

校正液：一瓶55 mL 標0, (現成可用) 五瓶, 標1-5 (乾燥)

校正液瓶中含有0至大約100ng/mL IGFBP-3，血清免疫蛋白、ProClin 300。確實濃度標示於各瓶標籤上。重製確實濃度標示於瓶子標籤上。一但打開試劑請儲存於2-8°C的溫度中48小時，若需更長期保存，則應儲存於-20°C或更低的溫度達2星期。不建議更長期保存。校正液與內部參考標準是吻合的。

『空白』校正液可單獨購買(#A99225)

質控品：每瓶，標籤為1,2 (冷凍乾燥品)

此瓶含有蛋白(BSA),IGFBP-3及ProClin 300，重製確實量標示於瓶子標籤上，重製後確實濃度數值在於附件上註明。當開封後請儲存於2-8°C的溫度中48小時，若需更長期保存，則應儲存於-20°C或更低的溫度達2星期。不建議更長期保存。

需要但未附的物品

除了一般實驗室設備以外，尚需要下列各物品

- 12 x 75 mm 的高硼硅酸鹽玻璃試管
- 12 x 75 mm 試管用的試管架
- 可以分注(10 µL, 50 µL and 1.0 mL) 的精密分注器
- 可以精確重複分注s (200 µL, 3.0 mL) 的分注器
- ≥ 180 rpm 搖盪器
- 震盪型混合器
- 可以傾注的海綿試管架或類似器材
- 擦乾試管的吸水性物品
- 適用125I的迦瑪計數器
- log-log 對數繪圖紙或IRMA數據分析用的電腦軟體

程序

試劑的準備工作

讓所有試劑回到室溫,使用之前柔和的打旋或反向徹底地混合瓶內。

校正液及控制液重製

以在瓶上指定的蒸留水量重製,重製後靜置10分鐘,然後輕輕的混合,以避免在分注前產生氣泡。

樣品的稀釋

在分析用試樣之前用IGFBP-3零的標準液稀釋人的血清樣品 1:100。(例子: 10 µL血清+ 1.0 mL零的標準液)。用IGFBP-3與零的標準液 1:50的已知的或期望的非常低集中稀釋人的血清樣品在分析用試樣之前。(例子: 10 µL血清+ 500 µL 零的定標器)。

注: 不要稀釋IGFBP-3控制或定標器。不要乘控制結果以樣品稀釋因素。

分析步驟

所有試劑在分注前需回到室溫

跑校正液、對照液和患者樣品都用雙支。

步驟一 加入*	步驟二 培養	步驟三 計數
用零的標準液稀釋人血清樣品 1:100 向有抗體管中添加 50 µL的校正液、對照物或檢體, 以及立即加入200µL追蹤劑的追蹤劑柔和漩渦	在室溫(18 - 25°C)培養 18-24小時. 在振動器上設置≥180 rpm 清洗或傾倒所有管, (除了「總cpm」管), 由與海綿架的同時反向倒入一個放射性廢物容器。 吸收劑材料 1-2分鐘並輕輕地除去髒管。	吸或傾倒所有管, (除了«總cpm»管), 由與海綿架的同時反向倒入一個放射性廢物容器。 重複洗滌步驟2 多次(總共3次洗滌步驟)。 計算1分鐘內的結合cpm(B)及總cpm(T)

* 在另外2管中加入200 µL追蹤劑來獲得總cpm

結果

在標準曲線上進行內插法來獲得結果,標準曲線適用於與校正液同時進行檢測之檢體內的IGFBP-3濃度分析。

標準曲線

品質管制部門的結果使用樣條曲線擬合計算,其中確定放射性(cpm_{cal}-cpm_{cal0}) 在對數垂直軸上,校準品的分析物濃度在對數水平軸上(ng/mL)。

利用其他資料縮減的統計方法所得到的結果可能會稍微不同。

Total activity: 146,587 cpm				
校正品	IGFBP-3 (ng/mL)	cpm (n=2)	B/T(%)	cpm _{cal} - cpm _{cal0}
0	0	1,295	-	-
1	2.3	4,252	2.05	2,957
2	5.7	8,386	4.95	7,091
3	28.0	24,623	16.20	23,328
4	60.0	46,272	31.20	44,977
5	120.0	79,597	54.30	78,302

(標準曲線範例,請勿用此進行計算)

檢體

每個檢體需找到垂直軸上的cpm或B/T值,並在水平軸上判讀對應的分析物濃度。

將檢體結果乘以稀釋倍數(例如100)。

結果也許被轉換成根據非糖基化分子量的參考標準(28.75 kDa)。乘以0.035. 轉換ng/mL成nmol/mL。

預期值

建議各實驗室應建立自有的IGFBP-3正常範圍數值。在下列顯示血清濃度獲得了參考值。附錄之下數據是在從多中心研究的到。小兒科數據在下表為有正常高度和增長模型的孩子得到的。

Age (years)	N	平均值 (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Absolute range (ng/mL)
0 - 1	49	1,965	548	1,990	1,030 - 3,090
1 - 2	42	2,154	649	2,080	1,100 - 3,620
2 - 3	28	2,231	605	2,140	1,200 - 3,990
3 - 4	18	2,312	786	2,120	1,400 - 4,250
4 - 5	23	2,363	459	2,290	1,630 - 3,150
5 - 6	19	2,676	553	2,720	2,000 - 4,230
6 - 7	22	2,924	617	2,990	2,000 - 4,210

(有關更多細節,請參閱附件)

品質管制

優良實驗室規範表示定期利用對照檢體來確認所得結果的品質,且必須利用與分析檢體完全相同的方式來進行適當的統計方法來分析所得結果。

若發生包裝物損壞變值或所得數據顯示有性能改變的情形時,請與您當地經銷商聯繫,或利用下列電子郵件地址與我們聯繫: imunochem@beckman.com

性能特色

(有關更多細節,請參閱資料表中的「附錄」)

代表資料僅供參考。本化驗在各個實驗室中展現的效能可能不盡相同。

靈敏度

分析靈敏度: 0.27 ng/mL

功能靈敏度: 0.31 ng/mL

專一性

以下肽激素的1 µg/tube給了濃度 <3 ng/mL: hIGFBP-1 (purified, amniotic fluid), rhIGFBP-2, rhIGFBP-4, rhIGFBP-5, rhIGFBP-6, rhIGF-I, rhIGF-II.

精確度

各次分析內

在同一分析內,將檢體分析20次,所得的變異係數不高於≤4.4%。

各次分析間

在15次不同分析內,以一式二份方式來分析檢體,所得的變異係數不高於≤13.5%。

準確性

稀釋試驗

高濃度檢體以空白校正液進行連續稀釋,所得的回收率介於82.3%到120%之間。

回收試驗

低濃度血清樣品與已知IGFBP-3血清檢體攪入,所得的80.1%到116%回收率為之間。

測量範圍(從分析到高靈敏度校準器): 0.27至大約100 ng/mL

限制

- 疏忽遵守這些使用說明書(IFU)也許極大影響結果。
- 疏忽髒污管適當地傾倒也許導致錯誤的複製和假的值。
- 應該根據患者的總臨床敘述解釋結果,包括臨床的歷史、從另外的測試數據和其他適當的信息。
- 在這成套試劑測量IGFBP-3血清或EDTA血漿。
包含IGFBP-3蛋白酶的血清也許包含immunoreactive IGFBP-3片段。完整IGFBP-3的測量在這些樣品的也許要求初步尺寸排除色譜法 [3].
- 避免對樣本或試劑反覆凍融。
- 不要使用嚴重溶血或脂血標本。
- 為分析用試樣使用抗體,可能性為干涉存在由heterophile 抗體為病人樣品。通常暴露於動物或接受了免疫療法或診斷過程運用免疫球蛋白或免疫球蛋白片段也許生產抗體的患者,即HAMA,干涉放射免疫。這樣干涉抗體也許導致錯誤結果。仔細地評估患者被懷疑有這些抗體的結果。

APPENDIX

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Summary and explanation of the test

The insulin-like growth factors, IGF-I and IGF-II, are potent mitogenic and anabolic peptides with structural homology to insulin [4]. The IGFs are produced by multiple body tissues under control of growth hormone (GH) and other regulatory factors, and act as autocrine, paracrine and endocrine regulators of cell growth. In serum and other biological fluids, the IGFs are complexed to six specific, structurally homologous binding proteins (IGFBPs) [5;6;7]. IGFBP-3 is the major IGFBP in postnatal serum, where its molar concentration in normal serum approximates the molar concentration of total IGF peptide (IGF-I + IGF-II) [8].

Human IGFBP-3 is a 264 amino acid peptide, with a 27 amino acid signal peptide and 18 cysteine residues [9]. Serum levels of IGFBP-3 rise gradually during childhood, increase more rapidly during puberty, reach peak levels at mid to late puberty, and fall during adult life [10]. Determination of serum IGFBP-3 levels promises to be of considerable value in assessment of disorders of the GH-IGF axis. Like IGF-I, IGFBP-3 is GH dependent; however, IGFBP-3 levels may be less age-dependent than IGF-I levels [10]. Total IGF levels show higher correlation with GH sufficiency than either IGF-I or IGF-II levels alone [11] and IGFBP-3 levels correspond with total IGF levels. In addition, IGF assays typically require an extraction procedure to remove interfering IGF-binding proteins; this step may be a source of assay error [12].

Assays for IGFBP-3 do not require prior sample extraction. These aspects of IGFBP-3 physiology and chemistry allow its measurement to reflect GH activity. Thus, in GH deficiency of either pituitary or hypothalamic origin, IGFBP-3 levels are uniformly low. Blum et al [10] have reported that 128/132 children with GH deficiency have serum IGFBP-3 concentrations below the 5th percentile for age. Similar data have been reported by Hasegawa et al. [13]. In situations of GH receptor deficiency, such as Laron syndrome, anti-GH antibodies, liver disease or malnutrition, IGFBP-3 levels are also reduced, even in the presence of elevated serum GH concentrations [3].

Sensitivity

The analytical sensitivity, or minimum detection limit, calculated as 2 standard deviations from the mean of 20 replicates of the 0 ng/mL IGFBP-3 calibrator, is 0.27 ng/mL.

Specificity

1 µg/tube of the following peptide hormones gave concentrations of <3 ng/mL:

PEPTIDE HORMONE
hIGFBP-1 (purified, amniotic fluid)
rhIGFBP-2
rhIGFBP-4
rhIGFBP-5
rhIGFBP-6
rhIGF-I
rhIGF-II

Interspecies Serum Comparisons:

NON-REACTIVE SERA	IMMUNOREACTIVE SERA
	Pig
	Cow
Sheep	Rabbit
Goat	Horse
Mouse	Dog
	Rat
	Guinea Pig

Since the actual concentrations of IGFBP-3 in the animal sera were not known and pure non-human IGFBP-3 was not available for testing, percent cross-reactivity could not be calculated. However, it was evident that none of the animal sera tested showed significant cross-reactivity or linearity in this assay.

Precision

Intra-assay

The intra-assay precision was determined from the mean of 20 replicates each.

Sample	N	Mean (ng/mL)	Standard deviation (ng/mL)	Coefficient of variation (%)
I	20	24.7	1.08	4.37
II	20	36.5	0.90	2.46
III	20	43.7	1.08	2.47

Inter-assay

The inter-assay precision was determined from the mean of 15 separate assays.

Sample	N	Mean (ng/mL)	Standard deviation (ng/mL)	Coefficient of variation (%)
I	15	17.6	1.79	10.2
II	15	44.2	5.97	13.5
III	15	61.5	3.83	6.23

Accuracy

Dilution test

Five serum samples were diluted with 0 ng/mL IGFBP-3 calibrator and assayed.

Sample	Dilution factor	Measured conc. (ng/mL)	Expected conc. (ng/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
S1	-	42.42	-	-
	1:2	24.23	21.21	114.2
	1:4	11.10	10.61	104.7
	1:8	4.66	5.30	87.88
	1:16	2.44	2.65	92.03
S2	1:32	1.33	1.33	100.3
	-	58.90	-	-
	1:2	32.85	29.45	111.5
	1:4	16.45	14.73	111.7
	1:8	6.94	7.36	94.26
S3	1:16	3.55	3.86	96.43
	1:32	1.91	1.84	103.8
	-	47.56	-	-
	1:2	25.31	23.78	106.4
	1:4	12.20	11.89	102.6
S4	1:8	5.21	5.95	87.64
	1:16	2.78	2.97	93.52
	1:32	1.65	1.49	111.0
	-	46.35	-	-
	1:2	27.60	23.18	119.1
S5	1:4	13.37	13.80	96.88
	1:8	5.68	6.90	82.32
	1:16	2.97	3.45	86.09
	1:32	1.56	1.73	90.43
	-	40.33	-	-
S5	1:2	24.16	20.17	119.8
	1:4	10.58	10.08	104.9
	1:8	4.62	5.04	91.64
	1:16	2.48	2.52	98.39
	1:32	1.50	1.26	119.0

Recovery test

IGFBP-3 was added to five serum samples and assayed according to the procedure of the kit.

Sample	Endogen. conc. (ng/mL)	Added conc. (ng/mL)	Expected conc. (ng/mL)	Measured conc. (ng/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
S1	3.48	1.24	4.71	4.05	85.93
	3.42	3.05	6.47	5.25	81.10
	3.34	5.95	9.30	7.83	84.24
S2	4.94	1.85	6.78	5.60	82.56
	4.89	3.05	7.94	6.82	85.93
	4.73	7.08	11.80	12.18	103.2
S3	7.78	3.05	10.82	9.19	84.90
	7.59	5.95	13.54	13.86	102.3
	7.38	9.26	16.64	18.58	111.7
S4	4.80	3.05	7.85	6.97	88.80
	4.69	5.95	10.64	10.13	95.22
	4.51	10.32	14.83	17.27	116.4
S5	6.05	3.05	9.10	7.29	80.13
	5.90	5.95	11.86	10.39	87.63
	5.69	10.32	16.01	17.22	107.6

Expected values

Serum IGFBP-3 levels increase with age during childhood, peak in mid- to late-puberty and decline gradually during adult life. Levels differ between male and female within each age group and pubertal stage. In addition, other factors, such as nutritional status, may affect IGFBP-3 levels. Therefore, it is important that each laboratory carefully define the characteristics of the reference population prior to determining expected values. The data below are from multi-center studies.

The pediatric data in the following tables were obtained for children with normal heights and growth patterns.

IGFBP-3 levels by chronological age

Male

Age (years)	N	Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Absolute range (ng/mL)
7 - 8	35	2,501	1,082	3,510	1,250 - 6,350
8 - 9	22	3,539	665	3,515	2,300 - 5,050
9 - 10	25	3,694	794	3,880	2,190 - 5,190
10 - 11	26	3,382	1,083	3,160	1,800 - 7,060
11 - 12	26	3,502	873	3,305	2,000 - 5,470
12 - 13	27	3,787	993	3,840	1,820 - 6,990
13 - 14	27	4,467	1,119	4,650	2,400 - 7,330
14 - 15	20	4,652	1,524	4,885	1,700 - 6,940
15 - 16	19	4,610	1,494	4,900	2,100 - 7,170
16 - 18	22	4,625	1,294	4,315	2,590 - 7,280
18 - 20	22	4,932	1,218	5,020	2,680 - 7,290
20 - 23	31	4,645	1,020	4,490	2,930 - 7,380
23 - 25	22	4,253	907	4,415	2,250 - 5,480
25 - 30	52	3,642	957	3,405	2,330 - 6,680
30 - 40	43	3,445	851	3,350	1,730 - 5,590

Female

Age (years)	N	Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Absolute range (ng/mL)
7 - 8	21	4,067	1,137	4,020	2,060 - 6,530
8 - 9	17	3,923	830	4,070	2,560 - 5,530
9 - 10	25	4,440	1,020	4,350	2,860 - 7,740
10 - 11	24	4,116	1,115	4,105	2,690 - 7,200
11 - 12	20	4,771	1,447	4,200	2,300 - 7,740
12 - 13	23	4,710	1,699	4,400	1,800 - 8,410
13 - 14	32	4,310	1,225	4,170	2,000 - 7,110
14 - 15	24	4,371	1,089	4,220	2,600 - 7,320
15 - 16	23	4,440	944	4,630	2,400 - 5,980
16 - 18	24	4,319	1,084	4,190	2,000 - 6,470
18 - 20	21	4,430	1,530	4,840	2,310 - 7,480
20 - 23	28	4,668	1,446	4,340	2,760 - 7,350
23 - 25	20	4,567	1,319	4,185	2,920 - 7,000
25 - 30	48	4,220	1,191	3,985	2,050 - 7,600
30 - 40	29	3,789	1,114	3,780	2,300 - 7,260

Both Sexes

Age (years)	N	Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Absolute range (ng/mL)
30 - 40	90	3,493	900	3,330	1,730 - 7,260
40 - 50	44	3,152	497	3,140	2,080 - 4,310
50 - 70	41	2,966	439	2,900	2,020 - 3,990

PATHOLOGIC SAMPLES

Diagnosis	Age (years, mean \pm SD)	N	Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	Median (ng/mL)	Absolute range (ng/mL)
Growth Hormone Deficiency	8.8 \pm 4.6	43	1,354	695	1,210	250 - 2,860
Constitutional Growth Retardation	10.8 \pm 3.2	18	2,607	719	2,530	1,520 - 4,320
Normal Variant Short Stature	7.3 \pm 4.2	20	1,994	601	1,830	1,270 - 2,990
Acromegaly	adult	57	5,777	1,374	5,540	1,550 - 9,370

¹²⁵I Characteristics

T_{1/2} (¹²⁵I) = 1443 h = 60.14 d


¹²⁵ I	E (MeV)	%
Y	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25


Symbols Key

REF Product Reference / Référence du produit / Produktreferenz / Riferimento prodotto / Número de referencia del producto / Referência do produto / Produktreferenz / Κωδικός αναφοράς προϊόντος / 产品参考 / Gaminio nuoroda / Termékszám / Dane referencyjne produktu / Reference k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Úrün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考

IVD In Vitro Diagnostic / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostica in vitro / Para diagnóstico in vitro / Diagnóstico in vitro / InVitro-diagnostik / Για διάγνωση in vitro / 体外诊断 / In vitro diagnostika / In vitro diagnosztikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / Ин витро диагностика / 體外診斷


CONTENTS Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενο / 組成 / Rinkinio sudėtis / Tartalom / Zawartość / Obsah / Obsah / 내용물 / İçindekiler / Содержание / Съдържание / 目錄


 Manufactured by / Fabriqué par / Hergestellt von / Prodotto da / Fabricado por / Tillverkas av / Κατασκευαστής / 製造商 / Gamintojas / Gyártó: / Producent / Výrobce / Výrobca / 제조 / Üretici / Изготовлено / Произведено от / 製造商


 Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Räcker till "n" antal tester / Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις / 含量足够 <n> 次测试 / Turinio pakanka <n> tyrim / <n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz / Zawartość wystarcza na <n> testów / Lze použít pro <n> testů / Obsah vystačí na <n> testov / <n> 테스트에 대해 충분한 양 포함 / <n> sayida test için yeterlidir / Содержит достаточно для количества тестов: <n> / Съдържа достатъчно за <n> теста / 內容物足夠執行 <n> 次測試

CE CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Mercado CE / Marcação CE / CE-märkning / Σήμανση CE / CE 标志 / CE ženklas / CE jelzés / Znak CE / Značka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識

SDS Safety Data Sheet / Fiche technique santé-sécurité / Sicherheitsdatenblatt / Scheda dati di sicurezza / Hoja de datos de seguridad / Ficha de Dados de Segurança / Säkerhetsdatablad / Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας / 安全数据单 / Saugos duomenų lapas / Biztonsági adatlap / Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa / Bezpečnostní list / Bezpečnostný list / 안전보건자료 / Güvenlik Bilgi Formu / Паспорт безопасности / Информационен Лист За Безопасност / 安全性資料表

 Consult Instructions for Use / Consultez le mode d'emploi / Siehe Gebrauchsanweisung / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Konsultera bruksanvisning / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / 请参阅使用说明 / Skaitykite naudojimo instrukciją / Olvassa el a használati utasítást / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postupujte podle návodu k použití / Prečítajte si návod na použitie / 사용 안내 문의 / Kullanma Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижте Инструкциите за употреба / 請參閱使用說明

 Temperature range(s) / Plage(s) de température / Temperaturbereich(e) / Intervallo/i di temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Temperaturintervall / Εύρος(-η) θερμοκρασίας / 溫度範圍 / Temperatūros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Sıcaklık aralıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍

 Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / Įspėjimas / Figyelem / Uwaga / Upozornění / Upozornenie / 주의 / Dikkat / Внимание / 注意

 Expiration Date / Date D'expiration / Verfallsdatum, Verw. bis: / Data Di Scadenza / Fecha De Caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Ημερομηνία λήξης / 失效日期 / Galiojimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expirație / 만료 날짜 / Son Kullanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日

LOT Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer serii / Číslo sarže / 로트 번호 / Lot Numarası / Номер партии / Номер на партида / 批號

 Date of Manufacture / Date de Fabrication / Herstellungsdatum / Data di Fabbricazione / Fecha de Fabricación / Data de Fabrico / Produktionsdatum / Ημερομηνία Παραγωγής / 生产日期 / Pagaminimo Data / Gyártás Dátuma / Data Produkcji / Datum Výroby / Datum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期



Biohazard / Risque biologique / Biogefährdung / Rischio biologico / Riesgo biológico / Risco biológico / Biologisk fara / Βιολογικός κίνδυνος / 生物危害 / Biologisk fara / Veszélyes biológiai anyag / Zagrożenie biologiczne / Biologické riziko / Biologické riziko / 생물학적 위험 / Biyolojik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktiv / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktivyvioj medžiaga / Radioaktiv / Radioaktivny / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性

DANGER

DANGER / DANGER / GEFAHR / PERICOLO / PELIGRO / PERIGO / FARA / ΚΙΝΔΥΝΟΣ / 危險 / PAVOJUS / VESZÉLY / NIEBEZPIECZENSTWO / NEBEZPEČÍ / NEBEZPEČENSTVO / 위험 / TEHLÍKE / ОПАСНО / ОПАСНОСТ / 危險

Ag^{125I}

Ab^{125I}

Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / Tracer / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atsekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikátor / Indikátor (tracer) / 트레이서 / Tracer'lar / метка / Индикатор / 追蹤劑

CAL

CAL 0

Calibrator / Calibrateur / Kalibrator / Calibratore / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Βαθμονομητής / 校准品 / Kalibravimo medžiaga / Kalibrátor / Kalibrator / kalibrátor / Kalibrátor / 보정 물질 / Kalibratör / Калибратор / Калибратор / 校正液

CTRL

Control / Contrôle / Kontrolle / Controllo / Control / Controllo / Kontrolle / Μάρτυρας / 质控品 / Kontrolliné / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Kontrola / 정도관리 / Kontrol / Контроль / Контролна / 質控品

TUBE

Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrör / σωληνάρια / 试管 / Mégintüveliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmavky / 튜브 / Tüpler / пробирки / Bulgarian / 試管

IFU

Instruction for Use / Mode d'emploi / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso / Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Bruksanvisning / Οδηγίες χρήσης / 使用说明 / Naudojimo instrukcija / Használati utasítás / Instrukcja użycia / Návod k použití / Návod na použitie / 사용 안내 / Kullanma Talimatı / Инструкции / Инструкции за употреба / 使用说明

SOLN|WASH|20x

Wash Solution Concentrate 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Waschlösungskonzentrat 20X / Concentrato di soluzione di lavaggio 20X / Solución de lavado concentrada 20X / Concentrado de solução de lavagem 20X / Tvätlösningskoncentrat 20X / Συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης 20X / 浓缩清洗液 20X / Plovimo tirpalu koncentratas 20X / 20X mosóoldat-koncentrátum / Koncentrat 20X roztvoru pľucšacego / Koncentrát mycího roztoku 20X / Концентрат промышленного раствора 20X / Концентрат на разтвор за промиване 20X / 清洗溶液濃縮 20X

REFERENCES

1. Miles LEM, Lipschitz DA, Bieber CP and Cook JD: Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. *Analyt Biochem* 61:209-224, 1974.
2. DHHS (NIOSH) Publication No. 78-127, August 1976. Current Intelligence Bulletin 13 - Explosive Azide Hazard. Available <http://www.cdc.gov/niosh>.
3. Guevara-Aguirre J, Rosenfeld R. et al.: Growth hormone receptor deficiency in Ecuador: clinical and biochemical phenotype in two populations. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 417-423, 1993.
4. Daughaday W, Rotwein P: Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations. *Endocr Rev* 10:68-91, 1989.
5. Rosenfeld RG, Lamson L, Pham H, Oh Y, Conover C, De Leon DD, Donovan SH, Ocrant I, Giudice L.: Insulin-like growth factor-binding proteins. *Rec Progr Horm Res* 46:99-163, 1990.
6. Lamson G, Giudice L, Rosenfeld RG: Insulin-like growth factor binding proteins: structural and molecular relationships. *Growth Factors*. 5:19-28, 1991.
7. Cohen P, Fielder PJ, Hasegawa Y, Frisch H, Giudice LC, Rosenfeld RG: Clinical aspects of IGF binding proteins. *Acta Endocrinol (Copenh.)* 124 (suppl 2):74-85, 1991.
8. Baxter R, Martin J: Radioimmunoassay of growth hormone-dependent insulin like growth factor binding protein in human plasma. *J Clin Invest* 78:1504-1512, 1986.
9. Report on the nomenclature of the IGF binding proteins. *Endocrinology* 130: 1736-1737, 1992.
10. Blum WF, Ranke MB, Kietzman K, Gauggel E, Zeisel HJ, Bierich J: A specific radioimmunoassay for the growth hormone (GH)-dependent somatomedin binding protein: its use for diagnosis of GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 1292-1298, 1990.
11. Rosenfeld RG, Wilson DM, Lee PDK, Hintz RL: Insulin-like growth factors I and II in evaluation of growth retardation. *J Pediatr* 109:428-33, 1986.
12. Powell DR, Rosenfeld RG, Baker BK, Liu F, Hintz RL: Serum somatomedin levels in adults with chronic renal failure: the importance of measuring insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-II in acid chromatographed uremic serum. *J Clin Endocrinol Metab* 63:1186-1192, 1986.
13. Hasegawa Y, Hasegawa T, Aso T, Kotoh S, Tsuchiya Y, Nose O, Ohyama Y, Araki K, Tanaka T, Saisyo S, Yokoya S, Nishi Y, Miyamoto S, Sasaki N, Stene M: Usefulness and limitation of measurement of insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) for diagnosis of growth hormone deficiency. *Endocrinol Japon* 39(6): 585-591, 1992.