

**Arbeitsanleitung / Manual** 

# **Osteonectin EIA Kit**

Zur in vitro Bestimmung von Osteonectin in Serum

# **Osteonectin EIA Kit**

For the in vitro determination of Osteonectin in serum

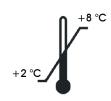
Nur zu wissenschaftlichen Zwecken / For research use only

Gültig ab / Valid from 20.04.2010



K 4231









Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim

Tel.: ++49 6251 70190-0 Fax: ++ 49 6251 849430

e.mail: <a href="mailto:lnfo@immundiagnostik.com">lnfo@immundiagnostik.com</a> www.lmmundiagnostik.com

Inhaltsverzeichnis	Seite/Page
Table of content	2
1. VERWENDUNGSZWECK	3
2. EINLEITUNG	3
3. TESTPRINZIP	3
4. INHALT DER TESTPACKUNG	4
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	4
6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	5
7. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	5
8. PROBENVORBEREITUNG	6
9. TESTDURCHFÜHRUNG	6
Hinweise Pipettierschema	6 7
10. ERGEBNISSE	8
11. EINSCHRÄNKUNGEN	8
12. QUALITÄTSKONTROLLE	8
ERWARTETE ERGEBNISSE	9
13. LITERATUR	9
14. ALL GEMEINE HINWEISE ZUM TEST	9

Arbeitsanl	leitung/l	Manual
	J,	

# Osteonectin

1. INTENDED USE	12
2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST	12
3. PRINCIPLE OF THE TEST	12
4. MATERIAL SUPPLIED	13
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	13
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	14
7. PRECAUTIONS	14
8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	15
9. ASSAY PROCEDURE	15
PROCEDURAL NOTES	15
Test procedure	16
10. RESULTS	17
11. LIMITATIONS	17
12. QUALITY CONTROL	17
EXPECTED VALUES	18
13. REFERENCES	18
14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	18

#### 1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von **Osteonectin** in Serum geeignet. Nur zu wissenschaftlichen Zwecken.

## 2. EINLEITUNG

**Osteonectin**, ein Ca<sup>2+</sup>-bindendes Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 32,700 D, wird von Osteoblasten, Endothelzellen und Megakaryozyten synthetisiert. Osteonectin ist involviert im Gewebeumbau, sowohl im Knochenmetabolismus als auch bei der Proliferation von Endothelzellen und bei Regenerationsprozessen. Somit könnte die quantitative Analyse von Osteonectin als nützlicher Marker zur Untersuchung von biochemischen Prozessen verwendet werden, z.B. bei vaskulärer Wundheilung, Plättchenaktivierung und Skelettmetabolismus.

## 3. TESTPRINZIP

Dieser **Osteonectin** Enzymimmunoassy (EIA) dient zur quantitativen Erfassung von **Osteonectin** aus Serum.

Das Testprinzip beruht auf einer Kompetitionsreaktion zwischen dem freien Antigen der Probe und dem immobilisierten Antigen auf der Mikrotiterplatte. Standards bzw. Proben werden mit dem Primärantikörper gegen **Osteonectin** direkt auf die vorbeschichtete Mikrotiterplatte überführt. Das Antigen aus den Proben konkurriert mit dem auf der Mikrotiterplatte immobilisierten Antigen um die freie Bindungsstelle der spezifischen Antikörper gegen **Osteonectin**. Die Detektion und Quantifizierung erfolgt über einen Peroxidase-markierten Sekundärantikörper und der entsprechenden Substratumsetzung. Parallel dazu wird eine Standardkurve – Optische Dichte (Absorption bei 450 nm) versus Standardkonzentration - erstellt, aus der die Konzentrationen der Proben ermittelt werden.

## 4. INHALT DER TESTPACKUNG

Art. Nr.	Abkürzung	Kit Komponenten	Menge
K 4231MTP	MTP	Mikrotitermodul, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen
K 4231WP	WASHBUF	ELISA Waschpufferkonzentrat 10x	100 ml
K 4231PV	SAMPLEBUF	Probenverdünnungspuffer	100 ml
K 4231A	AB	Antikörper (Kaninchen anti- Osteonectin), gebrauchsfertig	12 ml
K 4231K	CONJ	Konjugat, (anti-Kaninchen, Peroxidase- markiert), gebrauchsfertig	22 ml
K 4231ST	STD	Standards, gebrauchsfertig (0; 0.04; 0.12; 0.37; 1.11; 3.33 μg/ml)	1 x 6 vials
K 4231KO1	CTRL	Kontrolle, gebrauchsfertig	1 vial
K 4231KO2	CTRL	Kontrolle, gebrauchsfertig	1 vial
K 4231TMB	SUB	TMB Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	2 x 15 ml
K 4231AC	STOP	ELISA Stopplösung, gebrauchsfertig	15 ml

## 5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Bidestilliertes Wasser (aqua bidest.)
- $\bullet\,$  Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 5 1000  $\mu l$
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal-bzw. Multipipette
- Zentrifuge, 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer mit Filter 450 oder 405 nm (Referenzfilter 620 oder 690 nm)

#### 6. Vorbereitung und Lagerung der Reagenzien

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz der Platte darauf, dass die Reagenzien, wie in der Vorschrift beschrieben, gelagert und nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden. Der Kit kann so bis zu 2 x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem Volumen kleiner als 100 μl sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden um Volumenverluste zu vermeiden.
- Der WASHBUF (Waschpufferkonzentrat) vor Gebrauch 1:10 in bidestilliertem Wasser (aqua bidest.) verdünnen (100 ml WASHBUF + 900 ml aqua bidest.), gut mischen. Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Stammlösungen kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich im Wasserbad bei 37 °C auf. Der WASHBUF kann bei 2-8°C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Die verdünnte Pufferlösung ist bei 2-8 °C einen Monat in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- Der STD (Standard), CTRL (Kontrollen) und der AB (Antikörper) können
   2 Wochen bei 2-8° C gelagert werden. Bei einer Lagerung über 2
   Wochen müssen diese Komponenten bei -20° C gelagert werden.
- Alle anderen Testreagenzien sind bei 2-8 °C zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

#### 7. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur zu wissenschaftlichen Zwecken.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid bzw. Thimerosal sind giftig. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht verwendet werden. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung

und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Schwefelsäure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.

• Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

#### 8. PROBENVORBEREITUNG

#### Serum

Serumproben werden vor dem Einsatz im Test 1:10 verdünnt, z. B.

**25 μl** Probe + **225 μl** SAMPLEBUF (Probenverdünnungspuffer), gut mischen.

100 μl der Verdünnung werden pro Well im Test eingesetzt.

#### 9. TESTDURCHFÜHRUNG

#### Hinweise

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumina sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik übernimmt keine Haftung.
- Mikrotiterstreifen müssen während den Inkubationen abgedeckt sein.
- Die Bestimmung ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.

## **Pipettierschema**

Die PLATE (vorbeschichtete Mikrotiterplatte) vor Gebrauch 5x mit je 250  $\mu$ l verdünntem Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.

Die Bestimmungen sind in der PLATE (Mikrotiterplatte) in Doppelwerten durchzuführen.

- 1. **100 μl STD** (Standards), **CTRL** (Kontrollen) und verdünnte **Proben** in Doppelbestimmungen in die Vertiefungen pipettieren
- 2. **100 μl AB** (Fängerantikörper, anti-Osteonectin) pro Vertiefung pipettieren
- 3. **Über Nacht** bei 4°C unter Schütteln inkubieren
- Den Inhalt der Platte verwerfen und 5 x mit je 250 μl Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen
- 5. **200 μl CONJ** (Konjugat) pro Vertiefung pipettieren
- 6. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren
- 7. Den Inhalt der Platte verwerfen und **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen
- 8. **200 μl SUB** (Substrat) pro Vertiefung pipettieren
- 9. **10-20 Minuten** (entsprechend der Farbentwicklung) bei Raumtemperatur inkubieren
- 10. **50 μl STOP** (Stopplösung) pro Vertiefung zusetzen und kurz mischen
- 11. Extinktion **sofort** im Mikrotiterplattenphotometer bei **450 nm** gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Sollte die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigen, sofort bei 405 nm gegen 620 nm (690 nm) messen

#### 10. ERGEBNISSE

Die unten beschriebenen mathematischen Modelle können alternativ zur Auswertung benutzt werden. Wir empfehlen die 4-Parameter Funktion:

- 4-Parameter-Funktion
   Für die optische Dichte empfehlen wir eine lineare Ordinate und für die Konzentration eine logarithmische Abszisse (bei einer
  - logarithmischen Abszisse muss für den Standard mit der Konzentration 0 ein Wert kleiner 1 eingegeben werden z. B. 0.001).
- Punkt-zu-Punkt-Auswertung
   Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.
- 3. Gewichtete Spline-Funktion
  Für die optische Dichte empfehlen wir eine lineare Ordinate und für die Konzentration eine logarithmische Abszisse (bei einer logarithmischen Abszisse muss für den Standard mit der Konzentration 0 ein Wert kleiner 1 eingegeben werden z. B. 0.001). Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität ("Ausreißerkontrolle") durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte die Kontrolle manuell durchgeführt werden.

#### Serum

Die ermittelte Konzentration wird mit **10** multipliziert, um die tatsächliche Konzentration zu erhalten.

## 11. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit hohen Osteonectin-Konzentrationen, die höher liegen als der Standard mit der höchsten Konzentration (mit der niedrigsten OD), sollen weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden.

# 12. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen die Kontrollen bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Werte außerhalb des angegebenen Bereiches, kann Immundiagnostik AG die Richtigkeit der Werte nicht gewährleisten.

## Erwartete Ergebnisse

#### Referenzbereich

Wir empfehlen jedem Labor eigenen Referenzbereich für verschiedene Altersgruppen zu etablieren.

#### 13. LITERATUR

- 1. Whitson, S.W., et al., J. Cell Biol. 99, 607 (1984).
- 2. Otsuka, K., et al., J. Biol. Chem. 259, 9805 (1984).
- 3. Kuwata, F., et al., J. Biol. Chem. 260, 6993 (1985).
- 4. Sage, H., et al., J. Biol. Chem. 259, 3993 (1984).
- 5. Sage, H., et al., J. Cell. Physiol. 127, 373 (1986).
- 6. Kelm, Jr., R.J., et al., Blood 80, 3112 (1992).
- 7. Sage, E.H. and Bornstein, P. J. Biol. Chem. 266, 14831 (1992).

## 14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Falls für die Herstellung der Testkomponenten Humanseren verwendet wurde, sind diese auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befunden worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Testkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid/ Thimerosal sind giftig. Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit der Haut oder der Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Alle im Test enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zu wissenschaftlichen Zwecken eingesetzt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Datums nicht mehr verwendet werden. Einzelkomponenten verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt oder ausgetauscht werden.

Verwendete Symbole:

- Für die Qualitätskontrolle sind die, für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller- der Immundiagnostik zurück zu senden.

# 

Manual

# **Osteonectin EIA Kit**

## For the in vitro determination of Osteonectin in serum

For research use only

Valid from 20.04.2010



K 4231









Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim

Tel.: ++49 6251 70190-0 Fax: ++ 49 6251 849430

e.mail: <a href="mailto:lnfo@immundiagnostik.com">lnfo@immundiagnostik.com</a> www.lmmundiagnostik.com

#### 1. Intended use

The *Immundiagnostik* Assay is intended for the quantitative determination of **Osteonectin** in serum. It is for research use only.

#### 2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Osteonectin (SPARC, BM-40) is a 32,700 molecular weight, Ca<sup>2+</sup>-binding glyco-protein which is a synthetic product of osteoblasts, endothelial cells, and megakaryocytes. Osteonectin is involved in tissue remodeling both from the perspective of bone metabolism and endothelial cell proliferation and repair. Therefore, the quantitative analysis of this protein could serve as a useful marker for the researcher studying the biochemical processes governing vascular wound repair, platelet activation, and skeletal metabolism.

#### 3. Principle of the test

This enzyme immuno assay (EIA) can be used for the determination of **Osteonectin** in serum.

The test principle is based on a competition between antigen in the sample or standards and the antigen coated on the wells of microplate. A peroxidase-conjugated antibody is used for detection and quantification, and tetramethylbenzidine (TMB) as a peroxidase substrate. The enzymatic reaction is terminated by acidic stop solution. A dose response curve of absorbance unit (optical density, OD at 450 nm) vs. concentration is generated using the values obtained from standard. Osteonectin present in the patient samples is determined directly from this curve.

#### 4. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No	Label	Kit Components	Quantity
K 4231MTP	MTP	Microtiter plate, precoated	12 x 8 wells
K 4231WB	WASHBUF	ELISA wash concentrate 10 x	100 ml
K 4231 PV	SAMPLEBUF	Sample dilution buffer	100 ml
K 4231 A	AB	Antibody (Anti-Osteonectin antibody)	12 ml
K 4231K	CONJ	Conjugate (Peroxidase-labeled), ready to use	22 ml
K 4231ST	STD	Calibrators, ready to use (0; 0.04; 0.12; 0.37; 1.11; 3.33 μg/ml)	1 x 6 vials
K 4231KO1	CTRL	Control, ready to use	1 vial
K 4231KO2	CTRL	Control, ready to use	1 vial
K 4231TMB	SUB	TMB substrate (Tetramethylbenzidine)	2 x 15 ml
K 4231AC	STOP	ELISA stop solution, ready to use	15 ml

## 5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Bidistilled water (aqua bidest.)
- $\bullet\,$  Precision pipettors calibrated and tips to deliver 5-1000  $\mu l$
- Foil to cover the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- A multi-channel dispenser or repeating dispenser
- Centrifuge capable of 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Standard laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader at 450 or 405 nm (reference wave length 620 or 690 nm)

#### 6. Preparation and storage of reagents

- To run assay more than once, ensure that reagents are stored at conditions stated on the label. Prepare only the appropriate amount necessary for each assay. The kit can be used up to 2 times within the expiry date stated on the label.
- Reagents with a volume less than **100 μl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.
- The WASHBUF (wash buffer concentrate) should be diluted with aqua bidest. 1:10 before use (100 ml WASHBUF + 900 ml aqua bidest.), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the stock solutions. The crystals must be redissolved at 37°C in a water bath before dilution of the buffer solutions. The WASHBUF is stable at 2-8°C until the expiry date stated on the label. Diluted buffer solution can be stored in a closed flask at 2-8°C for one month.
- The STD (standards), CTRL (controls) and the AB (antibody) can be stored with a temperature of 2-8° C for two weeks. For a storage for more than two weeks the components must be stored with a temperature of -20° C.
- All other test reagents are ready to use. Test reagents are stable until the expiry date (see label of test package) when stored at 2-8°C.

#### 7. PRECAUTIONS

- For research use only.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Kit reagents contain sodium azide or thimerosal as bactericides. Sodium azide and thimerosal are toxic. Substrates for the enzymatic color reactions are toxic and carcinogenic. Avoid contact with skin or mucous membranes.
- Stop solution is composed of sulphuric acid, which is a strong acid. Even diluted, it still must be handled with care. It can cause acid burns and should be handled with gloves, eye protection and appropriate protective clothing. Any spills should be wiped out immediately with copious quantities of water.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.

## 8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

#### Serum

Serum samples must be diluted **1:10** before performing the assay, e.g. **25**  $\mu$ I serum + **225**  $\mu$ I SAMPLEBUF (sample dilution buffer), mix well.

**100 µl** of the diluted sample per well are used in the test.

#### 9. ASSAY PROCEDURE

#### Procedural notes

- Do not mix different lot numbers of any kit component within the same assay.
- The quality control guidelines should be followed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the test results. Immundiagnostik can therefore not be held responsible for any damage.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Carry out the assay with the actual manual delivered with the kit.

# Test procedure

Wash the precoated microtiter plate  $5 \times 10^{-2} \times 10^{$ 

- 1. Add  $100 \mu l$  of STD (standards), CTRL (controls) and diluted samples into each well in duplicate
- 2. Add 100 µl of AB (anti-osteonectin antibody solution) into each well
- 3. Incubate over night at 4°C shaking on a horizontal mixer
- 4. Aspirate and wash the wells **5 x with 250 μl** ELISA wash buffer
- 5. Add **200 μl** of **CONJ** (conjugate) into each well
- 6. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature
- 7. Aspirate and wash the wells **5 x with 250 μl** ELISA wash buffer
- 8. Add **200 µl** of **SUB** (substrate solution) into each well
- 9. Incubate for **10-20 minutes** at room temperature
- 10. Add **50 μl** of **STOP** (stop solution) into each well and mix shortly
- 11. Determine absorption immediately with an ELISA reader at 450 nm against 620 nm (or 690 nm) as a reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the range of the photometer, absorption must be measured immediately at 405 nm against 620 nm as a reference

## 10. RESULTS

The following algorithms can be used alternatively to calculate the results. We recommend to use the "4-Parameter-algorithm".

#### 1. 4-parameter-algorithm

It is recommended to use a linear ordinate for optical density and a logarithmic abscissa for concentration. When using a logarithmic abscissa, the zero calibrator must be specified with a value less than 1 (e. g. 0.001).

#### 2. Point-to-point-calculation

We recommend a linear ordinate for optical density and a linear abscissa for concentration.

#### 3. Spline-algorithm

We recommend a linear ordinate for optical density and a logarithmic abscissa for concentration. When using a logarithmic abscissa, the zero calibrator must be specified with a value less than 1 (e. g. 0.001).

The plausibility of the pairs of values should be examined before the automatic evaluation of the results. If this option is not available with the used program, a control of the paired values should be done manually.

#### Serum

Multiply the result by **10** to get the real concentration.

## 11. LIMITATIONS

Samples with Osteonectin concentration greater than the calibrator with the highest concentration (with the lowest OD), should be diluted and reassayed.

## 12. QUALITY CONTROL

**Control samples** should be analyzed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid, if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

## **Expected values**

#### Reference range

We recommend each laboratory to establish its own baseline values.

#### 13. REFERENCES

- 1. Whitson, S.W., et al., J. Cell Biol. 99, 607 (1984).
- 2. Otsuka, K., et al., J. Biol. Chem. 259, 9805 (1984).
- 3. Kuwata, F., et al., J. Biol. Chem. 260, 6993 (1985).
- 4. Sage, H., et al., J. Biol. Chem. 259, 3993 (1984).
- 5. Sage, H., et al., J. Cell. Physiol. 127, 373 (1986).
- 6. Kelm, Jr., R.J., et al., Blood 80, 3112 (1992).
- 7. Sage, E.H. and Bornstein, P. J. Biol. Chem. 266, 14831 (1992).

#### 14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- The test components which are made of human serum are tested for HVB and HIV and found to be negative. However, since no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, these reagents should be handled as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen. The normal precautions for laboratory working should be observed.
- Reagents of the test package contain sodium azide as a bactericide.
   Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.
- All reagents in the test package are for research use only.
- The reagents should not be used after the date of expiry (see label on the test package).
- Single components with different lot numbers should not be mixed or exchanged.
- The guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components have been defined by the producer. Any alterations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik can therefore not be held responsible for any damage.

#### Used symbols:

Lot number

