

Arbeitsanleitung/Manual

Vorläufig / Preliminary

Super sensitive

Präalbumin ELISA Kit

*Zur in vitro Bestimmung von Präalbumin (Transthyretin) in
Serum, Urin und Stuhl*

Prealbumin ELISA Kit

*For the in vitro determination of prealbumin (transthyretin) in
serum, urine and stool*

Gültig ab/valid from 30.08..2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 6331

Packungsgröße/Package size: 96 Tests/96 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C

Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim
Tel.: ++49 6251 70190-0
Fax: ++ 49 6251 849430
e.mail: Info@immundiagnostik.com
www.immundiagnostik.com

Inhaltsverzeichnis	Seite/Page
Table of contents	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	6
8. PROBENVORBEREITUNG	6
9. TESTDURCHFÜHRUNG	7
HINWEISE	7
PIPETTIERSCHEMA	7
10. ERGEBNISSE	9
MUSTEREICHKURVE	9
11. EINSCHRÄNKUNGEN	10
12. QUALITÄTSKONTROLLE	10
ERWARTETE ERGEBNISSE	10
13. TESTCHARAKTERISTIKA	10
14. LITERATUR	10
15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	11

Table of contents	Page
1. INTENDED USE	13
2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST	13
3. PRINCIPLE OF THE TEST	13
4. MATERIAL SUPPLIED	14
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	14
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	15
7. PRECAUTIONS	16
8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	16
9. ASSAY PROCEDURE	17
PROCEDURAL NOTES	17
TEST PROCEDURE	17
10. RESULTS	18
TYPICAL CALIBRATION CURVE	18
11. LIMITATIONS	19
12. QUALITY CONTROL	19
EXPECTED VALUES	19
13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	19
14. REFERENCES	19
15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	20

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) Kit ist für die quantitative Bestimmung von **Präalbumin (Transthyretin)** in Serum, Urin und Stuhl geeignet. Nur zur *in vitro* Diagnostik.

2. EINLEITUNG

folgt

3. TESTPRINZIP

Der Test basiert auf der "Sandwich"-ELISA Technik. Es werden zwei ausgewählte Antikörper, die humanes Präalbumin (**Transthyretin**) erkennen, verwendet.

Das human Pre-Albumin aus den Proben wird in einem einstündigen Inkubationsschritt an die auf der Mikrotiterplatte immobilisierten polyklonalen Antikörper gegen Präalbumin gebunden. Die Quantifizierung des gebundenen human Präalbumins erfolgt nach einem Waschvorgang durch Zugabe eines Peroxidase-markierten Antikörpers, der sich ebenfalls an das human Präalbumin bindet. Als Substrat für die Peroxidase wird Tetramethylbenzidin (TMB) verwendet. Die Substratumsetzung ist direkt proportional zum gebundenen human Albumin und kann photometrisch bei 450 nm gemessen werden.

Standards, Kontrollen und Proben, die **Präalbumin (Transthyretin)** enthalten, werden in eine Mikrotiterplatte pipettiert, deren Vertiefungen mit polyklonalen anti-human Präalbumin (Transthyretin) Antikörpern beschichtet wurden. In diesem ersten Inkubationsschritt wird das Präalbumin (Transthyretin) aus der Probe von dem gekoppelten Fängerantikörper gebunden. Es folgt die Zugabe vom Konjugat (ein Peroxidase markierter Antikörper) und es bildet sich folgender Komplex an der Wand der Mikrotiterplatte: Fängerantikörper - humanes Präalbumin (Transthyretin) - Peroxidase Konjugat. Als Peroxidasesubstrat wird Tetramethylbenzidin (TMB) eingesetzt. Die Enzymreaktion wird durch Zugabe von Säure abgestoppt. Dadurch erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die entstandene chromogene Verbindung wird photometrisch bei 450 nm gemessen. Die Intensität der Farbe ist dem Präalbumin (Transthyretin)-Gehalt direkt proportional. 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

Artikel Nr.	Kit Komponenten	Menge
K 6331MTP	Mikrotitermodul, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen
K 6331WP	ELISA Waschpufferkonzentrat 10x	2 x 100 ml
K 6331K	Konjugat, (Kaninchen anti Präalbumin, Peroxidase-markiert)	1 x 50 µl
K 6331VP	Konjugat-Verdünnungspuffer	1 x 15 ml
K 6331ST	Standards, lyophilisiert (0; 1.6; 6.25; 25; 100 ng/ml)	4 x 5 vials
K 6331KO	Kontrolle, lyophilisiert	4 x 1 vial
K 6331TMB	TMB Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 6331AC	ELISA Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Bidestilliertes Wasser (aqua bidest.)
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 5 - 1000 µl
- 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 4 x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- Das **Waschpufferkonzentrat** (WASHBUF) vor Gebrauch **1:10** in bidestilliertem Wasser (aqua bidest.) verdünnen (100 ml Konzentrat + 900 ml aqua bidest.), gut mischen. Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Stammlösungen kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Das **Pufferkonzentrat** 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.
- Die lyophilisierten **Standards** (STD) sind bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Standards mit **500 µl** bidestilliertem Wasser (aqua bidest.) rekonstituieren und zum Lösen 10 Minuten stehen lassen. Rekonstituierte Standards können **nicht gelagert** werden.
- Das **Konjugat** (CONJ) wird **1:500** in **Konjugat-Verdünnungspuffer** (CONJBUF) verdünnt (20 µl CONJ + 10 ml CONJBUF). Unverdünntes Konjugat ist bei **2-8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. **Verdünntes Konjugat ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt 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 zur *in vitro* Diagnostik.
- Qualitätskontrollen sollten immer mit gemessen werden.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befundet. 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 (H₂SO₄). H₂SO₄ ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht verwendet werden. H₂SO₄ 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.

8. PROBENVORBEREITUNG

Stuhlproben

Ca. **100 mg** Stuhl einwiegen, die genau eingewogene Stuhlmenge notieren, in **5 ml** Waschpuffer lösen und sehr gut mischen.

Probensuspension für 10 Minuten bei 3000 rpm zentrifugieren.

1 ml Überstand abnehmen, in ein Eppendorfröhrchen überführen und bei 13000 rpm für 5 Minuten zentrifugieren.

Den Überstand **1:40** mit Waschpuffer verdünnen (z.B. 25 µl Überstand + 975 µl Waschpuffer). Von dieser Lösung werden dann **100 µl** pro Vertiefung in den Test eingesetzt.

Wir empfehlen den Stuhl für jede Messung frisch einzuwiegen. Stuhlsuspensionen können nicht gelagert werden.

Stuhlproben können bei -20°C 4 Wochen gelagert werden. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

Zur einfacheren Dosierung und Homogenisierung des Probenmaterials empfehlen wir das Probenvorbereitungssystem der Fa. Roche Diagnostics/-Mannheim (Best. Nr. 745804).

Anmerkung: Wir empfehlen die optimale Probenverdünnung (1:500 - 1:5.000) im Voraus zu ermitteln.

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Reagenzien der Kitpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Reagenzien nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwenden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen während den Inkubationen mit Folie abdecken.
- Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien vermeiden.
- Die Bestimmung immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchführen.

Pipettierschema

Die vorbeschichtete Mikrotiterplatte vor Gebrauch **5x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.

Die Bestimmungen in der Mikrotiterplatte in Doppelwerten durchführen.

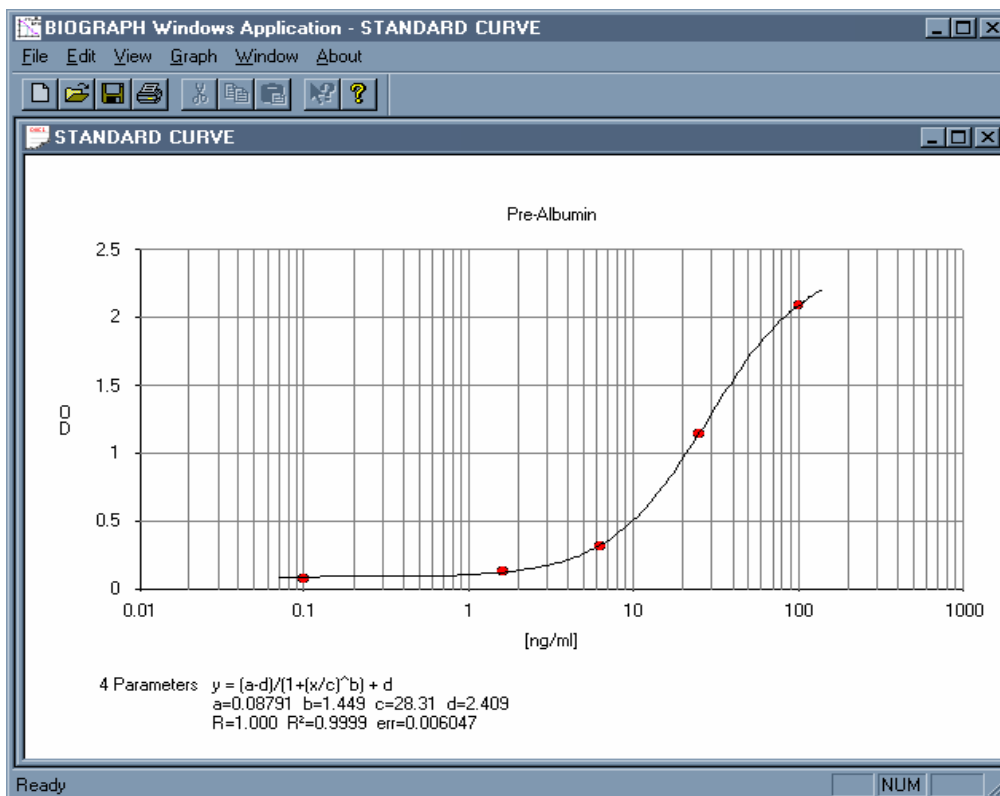
1. **100 µl** Standards, Kontrollen, Patientenproben in die Vertiefungen pipettieren.
2. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln auf Horizontalmischer inkubieren.
3. Inhalt der Platte verwerfen, und die Vertiefungen **5 x mit 250 µl** Waschpuffer waschen.
4. **100 µl** verdünntes Konjugat zugeben.
5. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
6. Inhalt der Platte verwerfen, und die Vertiefungen **5 x mit 250 µl** Waschpuffer waschen.
7. **100 µl** Substrat (TMB-Lösung) pro Vertiefung pipettieren.
8. **5 - 15 min.** bei Raumtemperatur inkubieren bis ausreichend große Farbdifferenzen eingetreten sind.
9. **50 µl** Stopplösung zusetzen.
10. Die Extinktion wird **sofort** im Mikrotiterplattenphotometer bei **450 nm** gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) gemessen. Sollte die Extinktion des höchsten Standards den

Messbereich des Photometers übersteigen, sollte sofort bei 405 nm gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

10. ERGEBNISSE

Zur Auswertung des Testes empfehlen wir die 4-Parameter-Funktion. Alternativ kann auch eine Punkt-zu-Punkt-Auswertung oder eine gewichtete Spline-Funktion gewählt werden. Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte diese der Operator durchführen.

Mustereichkurve



Konzentration [ng/ml]	100	25	6.25	1.6	0
OD Mittelwert	2.088	1.145	0.318	0.134	0.081

Diese Daten sind als Beispiel für eine Standardkurve aufgeführt und dürfen nicht zur Auswertung von Kundenergebnissen verwendet werden.

Stuhlproben:

Die ermittelte Präalbumin Konzentration der Stuhlprobe wird wie im folgenden Beispiel berechnet:

Einwaage: 80 mg (1ml Stuhl = 1g) = 0,08 ml

Verdünnungsstufe 1: $5\text{ml} / 0,08\text{ml} = 62,5$

Verdünnungsstufe 2: 40

Verdünnungsfaktor: 2500

Die ermittelte Stuhlkonzentration wird mit **2500** multipliziert, um die tatsächliche Konzentration zu bestimmen. **Der Faktor ändert sich mit der Einwaage der Stuhlprobe.**

11. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit hohen Präalbumin Konzentrationen, die außerhalb der Standardkurve liegen, werden mit Waschpuffer weiter verdünnt und nochmals analysiert.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von kommerziell erhältlichen Kontrollen (wenn vorhanden) für die interne 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

Wir empfehlen jedem Labor einen eigenen Normwertbereich zu etablieren.

13. TESTCHARAKTERISTIKA

folgt

14. LITERATUR

1. Schmidt P N, et al. (1995) Scand J Lab Invest 55:35-45

15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in vitro* Diagnostik verwendet werden.
- 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 AG 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 AG zurück zu senden.

07.10.2005 PreAlbumin_02112004.DOC

Manual
Preliminary

Super sensitive

Prealbumin ELISA Kit

*For the in vitro determination of prealbumin (transthyretin) in
serum, urine and stool*

Gültig ab/valid from 30.08.2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 6331

Packungsgröße/Package size: 96 Tests/96 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C

1. INTENDED USE

The Prealbumin Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kit is intended for the quantitative determination of **prealbumin (transthyretin)** in serum, urine and stool. It is for *in vitro* diagnostic use only.

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

soon available

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) is a two step assay for the ultrasensitive determination of human **prealbumin (transthyretin)** in serum, urine and stool.

Standards, controls and samples containing human **prealbumin (transthyretin)** are added to wells of microplate coated with polyclonal anti-human **prealbumin** antibodies. During the first incubation period, the antibodies immobilized on the wall of the microtiter wells capture **prealbumin** in the patient samples. After washing away the unbound components from samples, a detection peroxidase-conjugated anti-**prealbumin** antibody is added to each well. During the incubation step, the detection antibody is bound to the captured **prealbumin**. A "sandwich" of capture antibody - human **prealbumin** - peroxidase conjugate is formed. Tetramethylbenzidine (TMB) is used as a substrate for peroxidase. Finally, an acidic stop solution is added to terminate the reaction. The intensity of the yellow color is directly proportional to the **prealbumin** concentration of sample. A dose response curve of absorbance unit (optical density, OD at 450 nm) vs. concentration is generated; using the values obtained from standard. **Prealbumin** present in the patient samples, is determined directly from this curve.

4. MATERIAL SUPPLIED

Catalogue No	Kit Components	Quantity
K 6331MTP	One holder with precoated strips	12 x 8 wells
K 6331WP	ELISA wash buffer concentrate (10x)	2 x 100 ml
K 6331K	Conjugate, (rabbit-anti-prealbumin peroxidase-labeled)	1 x 50 μ l
K 6331VP	Conjugate dilution buffer	1 x 15 ml
K 6331ST	Calibrators, lyophilized (0; 1.6; 6.25; 25; 100 ng/ml)	4 x 5 vials
K 6331KO	Control, lyophilized	4 x 1 vial
K 6331TMB	TMB substrate (Tetramethylbenzidine), ready-to-use	1 x 15 ml
K 6331AC	ELISA stop solution, ready to use	1 x 7 ml

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Bidistilled (aqua bidest.) and sterile water
- Laboratory balance
- Precision pipettors calibrated and tips to deliver 5-1000 μ 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 4 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 **ELISA wash buffer concentrate** (WASHBUF) should be diluted with aqua bidest. **1:10** before use (50 ml concentrate + 450 ml aqua bidest.), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the stock solutions. The crystals must be redissolved at room temperature or at 37°C before dilution of the buffer solutions. The **buffer concentrate** 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 lyophilized **standards** (STD) is stable at **2-8°C** until the expiry date stated on the label. The standards must be reconstituted with **500 µl** aqua bidest. Allow the vial content to dissolve for 10 minutes and mix thoroughly by gentle inversion to insure complete reconstitution. Reconstituted standard is **not stable**.
- The **conjugate** (CONJ) must be diluted **1: 500** in conjugate dilution buffer (CONJBUF) (20 µl CONJ + 10 ml CONJBUF). The undiluted conjugate is stable at **2-8 °C** until expiry date stated on the label. **Diluted conjugate is not stable and can not be stored.**
- 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 *in vitro* diagnostic use only.
- Quality control guidelines should be observed.
- 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 sulfuric 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.

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Faeces

Add about **100 mg** of the sample (note the sample weight for the calculation) to **5 ml** of wash buffer and mix.

Centrifuge the sample suspension for 10 min at 3000 rpm.

Pipet 1 ml of supernatant into an Eppendorf tube and centrifuge once more at 13.000 rpm for 5 min.

Dilute supernatant **1:40** in wash buffer (25 μ l supernatant is added to 975 μ l wash buffer). Use **100 μ l** of the solution for the experiment.

We recommend to weight fresh stool samples for each run. Supernatant is not stable and can't be stored.

Stool samples can be stored at -20°C for 4 weeks. Avoid repeated freezing and thawing.

Immundiagnostik recommends to use tubes from Roche Diagnostics/Mannheim (No. 745804) for sample preparation.

Note: We recommend to determine the optimal sample dilution (1:500 – 1:5.000) in a preliminary experiment.

9. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.

Test procedure

Wash the precoated microtiter plate 5 x with 250 µl ELISA wash buffer. Carry out the tests in duplicate.

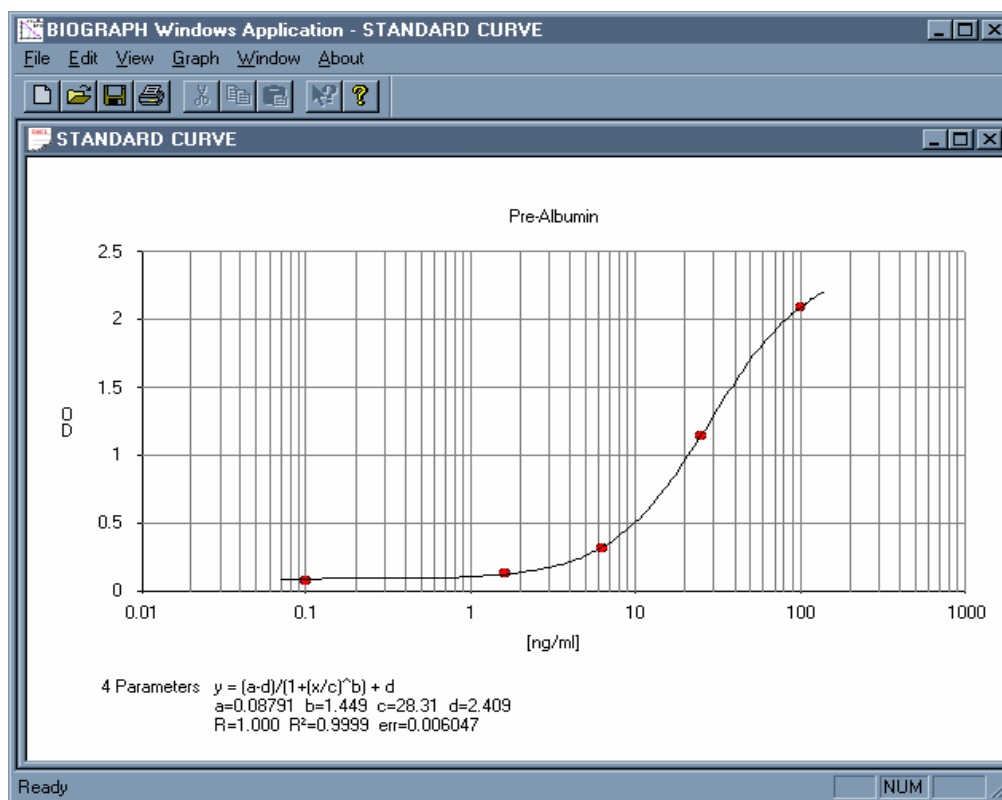
1. Add **100 µl** standard and control solutions and prediluted patient samples.
2. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.
3. Aspirate the contents of each well and wash the wells **5 x with 250µl** ELISA wash buffer.
4. Add **100 µl** diluted conjugate.
5. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.
6. Aspirate the contents of each well and wash the wells **5 x with 250µl** ELISA wash buffer.
7. Add **100 µl** TMB substrate solution.
8. Incubate for **5 - 15 minutes** at room temperature.
9. Add **50 µl** stop solution into each well and mix shortly.
10. 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

A calibration curve is constructed from the standards. Commercially available software can be used as well as graph paper. Results of the samples are read from this calibration curve.

THE CALIBRATION CURVE IS NOT LINEAR, therefore a spline-algorithm is recommended.

Typical calibration curve



Concentration [ng/ml]	100	25	6.25	1.6	0
OD mean values	2.088	1.145	0.318	0.134	0.081

The data is for demonstration only and cannot be used for the evaluation of test results.

Faeces

For the prealbumin concentration of faecal samples, calculate as described in the following example:

weight: 80 mg (1ml stool = 1g) = 0,08 ml
dilution step 1: 5ml / 0,08ml = 62,5
dilution step 2: 40
dilution factor: 2500

Multiply the result by **2500** to get the real concentration. The dilution factor depends on the weight of the faeces.

11. LIMITATIONS

Samples with prealbumin levels greater than the highest standard value, should be diluted and re-assayed.

12. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends commercial control samples for internal 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

Each laboratory should evaluate its own baseline value.¹

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

soon available

14. REFERENCES

1. Schmidt P N, et al. (1995) Scand J Lab Invest 55:35-45

15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from wrong use.
- Warranty claims and complaints in respect of deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product shall be send to Immundiagnostik AG or Apotech Corporation along with a written complaint.

07.10.2005 preAlbumin_02112004.DOC