

Fibronectin

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of Fibronectin in human plasma by turbidimetric assay

REF	Content
A00518	1x 5 mL Fibronectin Antibody Reagent 2x 25 mL PEG6 Buffer

Additionally offered:
 A02712 1x 1 mL Fibronectin Calibrator

GENERAL INFORMATION

Method	Immunoturbidimetric
Reaction	Nonlinear, endpoint
Wavelength	340 nm
Assay Temperature	18 – 37 °C
Sample	Plasma
Measuring Range	approx. 0 – 70 mg/dL
Sensitivity	5 mg/dL (Cobas Mira)
Hook Effect	> 1,150 mg/dL (Cobas Mira)

Manual Test Procedure Tests/Kit*

without sample dilution	50
with sample dilution	71

Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS FINAL CONCENTRATION

Fibronectin Antibody Reagent	
Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for Fibronectin	variable
Sodium azide	0.095 %

PEG6 Buffer

Phosphate buffered saline	
PEG	6 %
Sodium azide	0.095 %

REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions: Protect from light. Close immediately after use.

Stability:	at 2 – 8 °C	up to the expiration date
	at 18 – 25 °C	1 month

Do not freeze!

SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability:	at 2 – 8 °C	48 hours
	at – 20 °C	3 months

Freeze only once!

MANUAL TEST PROCEDURE

Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use

Calibration curve: Use Fibronectin Calibrator to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrs/Samples	15 µL	15 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	100 µL	100 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use Fibronectin Calibrator to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrs/Samples	60 µL	60 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	70 µL	70 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

CALCULATION

Calculate and plot $\Delta A = (A2 - A1)$ of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate ΔA optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

REFERENCE RANGE

25 – 40 mg/dL

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of Fibronectin is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG

DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

Fibronectins are large adhesive glycoproteins present in many tissues and in most body fluids. The insoluble form, called cellular fibronectin, is produced by fibroblasts, endothelial cells, macrophages and blood platelets and is a widespread component of connective tissue and basement membranes. The soluble form is referred to as plasma fibronectin. A variety of functions have been ascribed to fibronectin, including roles in opsonization, cell adhesion, cell motility, tissue repair and coagulation. Decreased plasma concentrations of fibronectin occur e.g. in shock, severe infections, hepatic cirrhosis, malnutrition, burns, disseminated intravascular coagulation (DIC), acute pancreatitis as well as after trauma and major surgery. The relative drop in plasma fibronectin concentrations serves as a severity index, with a rise in fibronectin concentration as a prognostically favourable sign. Increased levels of plasma fibronectin have been observed in established gestational proteinuric hypertension.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

5 mg/dL (Cobas Mira)

ACCURACY

A control from Behring was assayed on the Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Behring	26.5 (22.5 – 30.5)	28.1

PRECISION

Intra-Assay Precision

Two sera (low, medium) were consecutively measured 20 times on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V.
Low	20	18.3	0.44	2.40
Medium	20	32.4	0.73	2.24

Inter-Assay Precision

After calibration of the SPACE autoanalyser, Fibronectin was measured in two samples at regularly time intervals during 3 weeks. Samples were stored at 4 °C.

Sample	n	Mean	S.D.	C.V.
1	23	45.9	2.90	6.33
2	23	29.9	1.41	4.71

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:

$y = 1.1071x + 2.3834$; $r = 0.9251$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Bilirubin	20 mg/dL	Hemoglobin	1000 mg/dL
Triglycerides	2500 mg/dL	Heparin	50 mg/dL
Sodium Citrate	1000 mg/dL		

QUALITY CONTROL

All commercially available Control sera with Fibronectin values measured by this method may be used.

CALIBRATION

The assay requires the use of Fibronectin Calibrators. We recommend the Dialab Fibronectin Calibrator.

AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

WARNINGS AND PRECATIONS

- The Fibronectin reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

REFERENCES

- Sandberg, L. et al., Clin. Physiol. Biochem. 3, 257 (1985)
- O'Brien, W.F., Clinical Obstetrics and Gynecology 35, 351 (1992)
- Colli, A. et al., Cancer 58, 2489 (1986)



Fibronectin

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von Fibronectin in Humanplasma mittels turbidimetrischer Methode

REF	Inhalt
A00518	1x 5 mL Fibrinogen Antikörperreagenz 2x 25 mL PEG6 Puffer
Zusätzlich wird angeboten:	
A02712	1x 1 mL Fibronectin Kalibrator

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode: Immunturbidimetrisch
Reaktion: Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge: 340 nm
Testtemperatur: 18 – 37 °C
Probe: Plasma
Messbereich: ca. 0 – 70 mg/dL
Sensitivität: 5 mg/dL (Cobas Mira)
Hook-Effekt: > 1,150 mg/dL (Cobas Mira)

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*
ohne Probenverdünnung 50
mit Probenverdünnung 71

Automatische Testdurchführung
Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN	ENDKONZENTRATION
Fibronectin Antikörperreagenz	
Turbidimetrie-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für Fibronectin	variabel
Natriumazid	0.095 %
PEG6 Puffer	
Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung	
PEG	6 %
Natriumazid	0.095 %

REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZIENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Bedingungen: Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.
Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum
bei 18 – 25 °C 1 Monat

Nicht einfrieren!

PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C 48 Stunden
bei – 20 °C 3 Monate

Nur einmal einfrieren!

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

Testdurchführung ohne Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig
Kalibrationskurve: mit dem Fibronectin Kalibrator eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	15 µL	15 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	100 µL	100 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9 % Kochsalzlösung verdünnen
Kalibrationskurve: mit dem Fibronectin Kalibrator eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	60 µL	60 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	70 µL	70 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

BERECHNUNG

Das $\Delta A = (A2 - A1)$ jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebene Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die ΔA optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

REFERENZBEREICH

25 – 40 mg/dL
Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Der Test für Fibronectin basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Fibronectine sind große, adhäsive Glycoproteine, die in vielen Geweben und den meisten Körperflüssigkeiten vorkommen. Die unlösliche Form, genannt Fibronectin, wird von Fibroblasten, Endothelzellen, Makrophagen und Blutplättchen produziert und ist eine weitverbreitete Komponente von Bindegewebe und Basalmembranen. Die lösliche Form wird als Plasma-Fibronectin bezeichnet. Fibronectin wird eine Reihe von Funktionen zugeschrieben, unter anderem spielt es eine Rolle bei der Opsonisierung, Zelladhäsion, Zellbeweglichkeit, bei Gewebereparaturen und Koagulation. Erniedrigte Fibronectinkonzentrationen im Plasma treten zB auf bei Schock, schweren Infektionen, Leberzirrhose, Mangelernährung, Verbrennungen, disseminierter intravasaler Koagulopathie (DIC), akuter Pankreatitis und auch nach Traumata und Operationen. Der relative Abfall der Fibronectinkonzentration im Plasma dient als Indikator für die Schwere der Erkrankung, ein Anstieg der derselben gilt als prognostisch günstiges Zeichen. Erhöhte Fibronectinwerte im Plasma wurden bei bestehender Prä-Eklampsie beobachtet.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

5 mg/dL (Cobas Mira)

GENAUIGKEIT

Eine Kontrolle von Behring wurde auf dem Cobas Mira getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Behring	26.5 (22.5 – 30.5)	28.1

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

Zwei Seren (niedrig - mittel) wurden nacheinander je 20x auf dem Cobas Mira gemessen.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	18.3	0.44	2.40
Mittel	20	32.4	0.73	2.24

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration auf dem SPACE Autoanalyser, wurde Fibronectin in zwei Proben in regelmäßigen Zeitabständen 3 Wochen lang gemessen. Die Proben wurden bei 4°C gelagert.

Probe	n	Mittelwert	S.D.	C.V
1	23	45.9	2.90	6.33
2	23	29.9	1.41	4.71

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:
 $y = 1.1071x + 2.3834$; $r = 0.9251$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Bilirubin	20 mg/dL	Hämoglobin	1000 mg/dL
Triglyceride	2500 mg/dL	Heparin	50 mg/dL
Natrium-Citrat	1000 mg/dL		

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle kommerziell erhältlichen Kontrollseren, bei denen Fibronectin mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden.

KALIBRATION

Für diesen Test werden Fibronectin Kalibratoren benötigt. Wir empfehlen den Dialab Fibronectin Kalibrator.

AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Fibronectin Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet.

ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

BIBLIOGRAPHIE

- Sandberg, L. et al., Clin. Physiol. Biochem. 3, 257 (1985)
- O'Brien, W.F., Clinical Obstetrics and Gynecology 35, 351 (1992)
- Colli, A. et al., Cancer 58, 2489 (1986)

