



IGF-I RIA KIT

REF	10 IGF50	REF	10 IGF100
Σ	50	Σ	100

DEUTSCH



GARANTIE

Der Hersteller gewährt keine andere Garantie außer der, dass das Diagnosekit den betreffenden Analyt misst, wenn es gemäß den gedruckten Anleitungen des Herstellers verwendet wird. Die Verwendung des Diagnosekits für jeden anderen Zweck ist nicht Teil des Verwendungszwecks dieses Produkts und geht zum eigenen Risiko des Benutzers. Der Hersteller lehnt alle vorausgesetzten Garantien hinsichtlich einer allgemeinen Gebrauchstauglichkeit, Verwendungstauglichkeit oder vorausgesetzten Verwendbarkeit für jeden anderen Zweck ab. Alle durch einen bei anleitungsgerechter Verwendung auftretende Fehler des Diagnosekits sind auf den Ersatzwert des Kits beschränkt. Die Garantie der Bioclone Australia Pty Limited und ihrer Vertriebshändler beschränkt sich ausschließlich auf den Umtausch des Produkts oder die Rückerstattung des Kaufpreises. Bioclone Australia Pty Limited haftet nicht für durch das Produkt verursachte Eigentumsbeschädigung, Körperverletzung oder wirtschaftlichen Verlust.

Hergestellt durch Bioclone Australia Pty Limited
(ein Tochterunternehmen der Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071
71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIEN 2204
Tel +61 (0) 2 9517 1966 Fax +61 (0) 2 9517 2990 Numero verde 1800 251 138
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

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

VERWENDUNGSZWECK

Der IGF-I RIA dient der quantitativen in-vitro-diagnostischen Bestimmung von IGF-1 (Insulin-like growth factor I) im Serum oder Plasma

TESTPRINZIP

Dieser Assay basiert auf dem Doppelantikörper-Radio-Immuno-Assay-System. Die Methode beinhaltet einen einfachen Extraktions-Schritt, bei dem IGF-1 zuerst von dessen Bindungsprotein im Serum getrennt wird. Nach der kurzen Extraktionsprozedur konkurriert der Analyt in der Probe mit dem ¹²⁵I-markierten Tracer um die Bindung an eine konstanten Antikörpermenge. Ein zweiter, an magnetisierbare Polystyrolpartikel (Trennreagenz) gekoppelter Antikörper, wird zur Trennung von antikörpergebundenem und freiem ¹²⁵I-markiertem Tracer verwendet. Nach erfolgter Sedimentation wird der Überstand entfernt und das Pellet mit der gebundenen Radioaktivität in einem Gammacounter gezählt. Die Konzentration des Analyten ist umgekehrt proportional zur gebundenen Radioaktivität in den Pellets. Die Counts der Kalibratoren werden grafisch dargestellt und die Probenergebnisse werden aus der erstellten Standardkurve abgelesen.

MITGELIEFERTES REAGENZIEN,

STABILITÄT UND LAGERUNG
Kitgrößen - 50 Tests und 100 Tests (in Klammern). Der Kit und alle Komponenten sind ungeöffnet oder geöffnet bei 2-8°C innerhalb des angegebenen Verfalldatums zu lagern.

IGF-I: Tracer

1 Fläschchen Ref # IG11
(1 Fläschchen Ref # IG12)
5,5 (10,5) ml ¹²⁵I-markiertes IGF-1 (≤135kBq / ≤270kBq) in BSA-PBS-Puffer mit rotem Farbstoff. Enthält Bronidox L, 0,05% w/v. Gebrauchsfertig.

IGF-I: Antiserum

1 Fläschchen Ref # IGA1
(1 Fläschchen Ref # IGA2)
5,5 (10,5) ml, Anti-IGF-I Antiserum (Kaninchen), verdünnt in BSA-PBS-Puffer, blauer Farbstoff. Bronidox L, 0,05% w/v. Gebrauchsfertig.

Trennreagenz

1 Fläschchen Ref # SEP1
(1 Fläschchen Ref # SEP2)
13 (26) ml, Anti-Kaninchen-Antikörper (Ziege), gekoppelt an magnetisierbare Polystyrolpartikel, in BSA-PBS-Puffer. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Vor Gebrauch vorsichtig mischen, um eine homogene Lösung herzustellen.

Äthansäurelösung

1 Fläschchen Ref # IGAE1
(1 Fläschchen Ref # IGAE2)
20 (40) ml 87,5% iges Äthanol, in verdünnter HCl. Gut verschlossen halten. Gebrauchsfertig.

Neutralisierlösung

1 Fläschchen Ref #IGNS1
(1 Fläschchen Ref #IGNS2)

20 (40) ml Tris Phosphatpuffer. Gebrauchsfertig.

Waschkonzentrat

1 Fläschchen Ref # HW1
10 ml, 15fach konzentrierte Waschlösung. Enthält Natriumazid, 1,5% w/v. Vor Gebrauch verdünnen.

IGF-I: Kalibratoren

7 Fläschchen Ref # IGSA-G
Kalibrator A 2,0 ml, die übrigen Kalibrator B-G jeweils 0,5 ml, in BSA-PBS. Enthält Bronidox L, 0,05% w/v. Lyophilisiert.

IGF-I: Kontrollserum

1 Fläschchen Ref # IGC1
0,5 ml Humanserum. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Lyophilisiert.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

Behandlung der Proben und Komponenten des Kits, deren Verwendung, Lagerung und Anordnung sollte gemäß der lokalen oder nationalen Laborsicherheitsvorschriften oder Richtlinien erfolgen. Nur für Fachpersonal.

Proben, Kalibratoren und Kontrollen

Die Ausgangsstoffe der Kalibratoren und Kontrollen wurden mit einer anerkannten, zugelassenen Methode für das Vorliegen von Hepatitis B Oberflächenantigen, Hepatitis C Antikörper und HIV Antikörper - 1/2 (AIDS) getestet und wurden insgesamt als nicht reaktiv befunden. Trotzdem empfiehlt es sich, alle Proben als potentiell infektiös zu betrachten.

Konservierungsstoffe

Dieser Kit enthält Natriumazid und Bronidox L als Konservierungsstoffe. Da die Reagenzien einen potentiell toxischen Konservierungsstoff enthalten, sollte vorsichtig mit diesen umgegangen werden, um Verschlucken oder Hautkontakt zu vermeiden. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferrohrleitungen reagieren und potentiell explosive Säuren bilden.

Radioaktives Material

Der Tracer enthält radioaktives Material.

PROBENENTNAHME UND HANDHABUNG

Keine spezielle Patientenvorbereitung notwendig. Als Proben kann man Serum oder Plasma verwenden, das labortestgerecht zu entnehmen ist. Serum ist vorzuziehen, trotzdem können die Antikoagulantien Heparin oder EDTA ohne Genauigkeitseinbußen verwendet werden. Keine stark hämolytischen, lipämischen und trübe Proben verwenden.

Proben können bei 2-8°C bis zu 48 Stunden gelagert werden. Länger zu lagernde Proben sollten bei -20°C oder tiefer gelagert werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND GERÄT

- * Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- * Einwegplastikröhrchen mit Deckel 12 x 75 mm
- * Präzisionspipetten
- * Multipette
- * Vortexmischer
- * Rollmischer
- * Timer
- * Kühlzentrifuge (Leistung 2000 x g)
- * Magnetrack
- * Saugfähiges Papier
- * Gammacounter

HINWEISE ZUM VERFAHREN

Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-25°C) und vor Gebrauch vorsichtig mischen (über Kopf umdrehen). Es wird empfohlen, Doppelbestimmungen durchzuführen. Kontamination der Reagenzien führt zu schlechten Ergebnissen. Bei jedem Test sollte eine Kalibratorcurve angelegt werden. Alle Testschritte sollten ohne Unterbrechung durchgeführt werden. Die Reagenzien sind aufeinander abgestimmt; Reagenzien unterschiedlicher Lotnummern nicht untereinander mischen. Der Gammacounter und alle verwendeten Pipetten sind vor Gebrauch entsprechend zu kalibrieren. Sollte eine Zentrifuge nicht mindestens 2000 x g erreichen, kann das Pellet instabil sein. Die Zentrifugierzeit ist dann zu erhöhen.

Qualitätskontrolle

Kontrollproben sollten bei jedem Test mitbestimmt werden, um eine korrekte Testdurchführung zu garantieren. Vor einer Freigabe der Testergebnisse sollten die Kontrollwerte innerhalb der vorgegebenen Bereiche liegen.

TESTVERFAHREN

Vorbereitung der Reagenzien

Waschlösung

Waschlösung 1 zu 15 in entionisiertem Wasser verdünnen. Die Waschlösung kann bei Raumtemperatur (20-25°C) 3 Monate gelagert werden.

Kalibratoren und Kontrollen

Zur Rekonstitution der lyophilisierten Kalibratoren und Kontrollen das auf jedem Fläschchen etikett angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben. Fläschchen bis zur vollständigen Lösung ruhig stehen lassen (mind. 30 Min.) und dann vorsichtig mischen (über Kopf umdrehen). Die exakten chargenabhängigen Konzentrationen sind auf einem separaten im Kit enthaltenen Blatt angegeben. Nach Rekonstitution sollten die Kalibratoren bei -20°C gelagert werden.

Trennreagenz

Vor Gebrauch auf einem Rollmischer gut mischen.

Probenvorbereitung / Extraktionsverfahren

1. Extraktionsröhrchen kennzeichnen, eines pro Probe und Kontrolle.

2. 100 µl Probe in die Extraktionsröhrchen pipettieren.
3. 400 µl Äthansäurelösung pipettieren. Verschließen und mischen. Bei Raumtemperatur (20-25°C) 30 Min. stehen lassen.
4. Alle Röhrchen 20 Min. bei 2000 x g in einer Kühlzentrifuge (4°C) zentrifugieren.
5. Weitere Teströhrchen kennzeichnen, eines pro Probe.
6. Vorsichtig 50 µl Aliquot jedes Überstands in die entsprechenden Extraktionsröhrchen transferieren.
7. 500 µl Neutralisierlösung in jedes Röhrchen pipettieren. Vortexen.

Dies ist das neutralisierte Probenextrakt.

Protokoll
Radioimmunoassay - Testdurchführung

1. Teströhrchen zusammenstellen und kennzeichnen (Doppelbestimmung), inkl. Totalaktivität (TA), nichtspezifische Bindung (NSB), Kalibratoren, extrahierte Kontrollen / Proben.
2. 200 µl Kalibrator A in die NSB-Röhrchen pipettieren (Doppelbestimmung)
3. 100 µl Probe (Kalibrator, extrahierte Kontrolle/Probe) in die entsprechenden Röhrchen pipettieren (Doppelbestimmung).
4. 100 µl IGF-I Tracer (rot) in alle Röhrchen pipettieren.
5. 100 µl IGF-I Antiserum (blau) in alle Röhrchen pipettieren, außer NSB und TA

6. Röhrchen mischen und 2 h (oder ruhig stehend über Nacht) bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren. Alle Röhrchen sollten purpurfarben sein, mit Ausnahme der NSB und TC Röhrchen.

7. Am Ende der Inkubationszeit 250 µl des gründlich gemischten Trennreagenzes in alle Röhrchen pipettieren, mit Ausnahme der TA, und vortexen. TA Röhrchen zur Seite stellen und 15 Min. ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.

- 8a. Zur Trennung von freiem vom gebundenen Tracer die Teströhrchen in die magnetischen Trennracks geben und sicherstellen, dass alle Röhrchen mit der magnetischen Bodenplatte in Kontakt sind. 2 Min. stehen lassen.
- 8b. Das Rack nicht von der Bodenplatte entfernen. Den Überstand dekantieren und die Magnetplatte umgedreht halten. Röhrchen fest auf saugfähiges Papier aufklappen und die Ränder abstreifen, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen.

- 8c. Rack von der magnetischen Bodenplatte entfernen. 500 µl Waschlösung in alle Röhrchen pipettieren. Vortexen, sedimentieren auf magnetischer Bodenplatte und dekantieren.

9. Röhrchen mit Hilfe eines Gammacounters eine Minute lang zählen. Längeres Zählen reduziert statistische Zählfehler. Cpm jedes Röhrchens notieren.
10. Ergebnisse berechnen.

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung der Ergebnisse ist manuell möglich, wenn keine automatische Datenauswertung vorhanden ist.

1. Cpm-Mittelwert für Doppelbestimmung berechnen.
2. Kalibratorkurve auf Semilog- oder Loglinearpapier nach folgender Methode auftragen:

Berechnung von %B/T :

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

3. %B/Bo in die Y-Achse in die Y-Achse gegen die entsprechenden Kalibratorkonzentrationen auftragen.
4. Probenergebnis direkt aus der Kalibratorkurve in ng/ml ablesen.

MODELLBERECHNUNGEN

ID	cpm-MW	%B/Bo	IGF-I (ng/mL)
TA	89279		
NSB	628		
0	15922	100.0	
40	13493	84.1	46
100	10898	67.2	107
250	7078	42.2	273
500	4326	24.2	578
1000	2638	13.1	1129
2000	1753	7.4	2311
Kontrolle	7804	46.9	227
Probe 1	10285	63.1	126

KALIBRATION

Die in diesem Kit mitgelieferten Kalibratoren sind gegen (IRR IGF-I, 87/518 Est 1988) standardisiert. Sie sind in ng/ml angegeben.

Umrechnung der Einheiten:

$$1 \text{ U/mL IGF-I} = 240 \text{ ng/mL IGF-I} = 31.38 \text{ nmol/L IGF-I}$$

GRENZEN DES VERFAHRENS

Stark hämolysierte, lipämische oder trübe Proben können zu falschen Ergebnissen führen.

Proben, die eine merkliche Hintergrundradioaktivität besitzen, sollten nicht verwendet werden. Jede Probe mit entsprechendem Verdacht sollte vor der Testdurchführung auf Radioaktivität geprüft werden und solange gelagert werden, bis die Radioaktivität abgeklungen ist, oder es sollte eine neue Probe angefordert werden.

ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor auf Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich ermittelt. Folgende Referenzbereiche wurden durch Messung von Serumproben gesunder Personen erstellt und dient nur als Beispiel:

Alter (Jahre)	n	MW	SD	Median	5. Perzentile	95. Perzentile
0	28	68.5	62.4	58.5	19.8	108
1 - 3	40	98.6	58.1	88.1	39.7	229
4 - 6	29	117.0	67.1	97.9	45.3	247
7 - 9	39	203.0	107.0	184.0	71.7	450
10 - 12	38	327.0	150.0	324.0	122.0	521
13 - 15	52	388.0	140.0	388.0	158.0	605
16 - 18	27	461.0	109.0	454.0	282.0	641
19 - 30	106	294.0	96.7	282.0	152.0	424
31 - 40	55	220.0	75.1	215.0	118.0	326
41 - 50	68	193.0	65.2	196.0	108.0	297
51 - 60	61	170.0	58.9	163.0	82.2	268
61 +	25	165.0	54.6	157.0	86.8	241

TESTCHARAKTERISTIKA

Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW ± 2SD (ng/mL)	%CV
A	22	70.4 ± 3.8	5.4
B	22	123.0 ± 5.2	4.2
C	22	225.0 ± 7.7	3.4

Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW ± 2SD (ng/mL)	%CV
G	36	77.6 ± 4.6	5.9
H	36	135.0 ± 7.5	5.6
I	36	227.0 ± 9.8	4.3

* Doppelbestimmung am selben Tag

Spezifität

Analyt	Konzentration Gemessen	scheinbares IGF-I Ergebnis
Human GH	1000 nmol/l	nicht nachweisbar
Prolaktin	25000 mIU/l	nicht nachweisbar
IGFBP-1	1000 ng/ml	nicht nachweisbar
IGFBP-2	1000 ng/ml	nicht nachweisbar
IGF-II	4000 ng/ml	nicht nachweisbar

Richtigkeit – Wiederfindung

Die Wiederfindung wurde durch Messung vor und nach Zugabe von exogenem Analyt bestimmt.

Probe	IGF-I (ng/mL) Gemessen	IGF-I (ng/mL) Erwartet	% Wiederfindung
1	197	203	97.0
2	241	258	93.4
3	595	602	98.8

Richtigkeit - Verdünnung

Eine Probe wurde mit Nullkalibrator verdünnt, gemessen und die Wiederfindung berechnet.

Probe	IGF-I (ng/mL) Gemessen	IGF-I (ng/mL) Erwartet	% Wiederfindung
Net	456		
1/2	233	228	102.0
1/4	108	114	94.7

Sensitivität

Die Nachweisgrenze dieses Assays, definiert als die IGF-1-Konzentration, die dem cpm-Mittelwert von 9 Bestimmungen (n=20) des Nullstandards minus 2 Standardabweichungen entspricht, ist 1,0 ng/ml, was einer tatsächlichen Konzentration von ca. 0,018ng/ml entspricht.

Interferenz

Es wurden keine Interferenzen bei einer Hämoglobinkonzentrationen bis zu 250 mg/dl, Bilirubin bis 10 mg/dl und Triglyzeriden bis 970 mg/dl beobachtet.

BESTELLINFORMATION

Der IGF-I RIA wird hergestellt durch:

Bioclone Australia Pty Limited,
71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIEN.

Telefon +61 (0) 2 9517 1966 Freecall 1800 251 138

Fax +61 (0) 2 9517 2990

Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

TECHNISCHER KUNDENDIENST

Vollständiger technischer Kundendienst ist erhältlich durch Anruf bei Bioclone unter der Nummer

+61 (0) 2 9517 1966 oder Freecall 1800 251 138

TEILENUMMER.: KBIGFG Ausg. 6 Rev. Datum: 31 März 2006