



KIT IGF-I RIA

REF 10 IGF50

Σ 50

REF 10 IGF100

Σ 100

ITALIANO



GARANZIA

Il fabbricante non emette alcuna esplicita garanzia per il kit diagnostico tranne che per la sua capacità di misurare l'analita scelto, a condizione che si seguano le istruzioni scritte fornite dal fabbricante stesso. L'uso del kit diagnostico a qualsiasi altro titolo esula dall'impiego previsto per il prodotto ed è a rischio e pericolo dell'utente. Il fabbricante declina ogni tipo di garanzia implicita di commerciabilità, convenienza d'uso o utilità presunta a qualsiasi altro titolo. Qualsiasi indennizzo dovuto a un mancato funzionamento o errore del kit diagnostico usato conformemente alle istruzioni si limita al valore di sostituzione del kit. La sola responsabilità di Bioclone Australia Pty Limited e dei suoi distributori si limita alla sostituzione del prodotto oppure al rimborso della spesa d'acquisto. Bioclone Australia Pty Limited non è responsabile per danni materiali, lesioni personali o perdite di natura economica causati dai suoi prodotti.

Prodotto da Bioclone Australia Pty Limited

(società affiliata a Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071

71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIA 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



Hitachi Chemical Diagnostics Inc.

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

IMPIEGO PREVISTO

Il kit IGF-I RIA è stato creato per la misurazione diagnostica quantitativa *in vitro* dell'IGF-I (Insulin-like growth factor I o fattore di crescita insulino-simile 1) nel siero o nel plasma.

PRINCIPI DEL RIA

Il RIA è un test immunoradiometrico a doppio anticorpo. Il metodo include un passo di semplice estrazione nel quale l'IGF-I è prima separato dalla sua proteina legante nel siero. Dopo la breve procedura di estrazione, l'analita compete con l'anticorpo tracciante marcato con iodio 125 per legarsi a una quantità costante di anticorpo.

Un secondo anticorpo legato alle particelle di polistirene magnetizzabile (Reagente di separazione) è utilizzato per separare l'anticorpo legato dall'anticorpo tracciante libero marcato con ¹²⁵I. Dopo la sedimentazione, il soprannatante viene scartato e il pellet contenente la radioattività legata è misurato con un contatore gamma. La concentrazione di analita è inversamente proporzionale alla radioattività legata nel pellet. I conteggi dei calibratori vengono messi in grafico e i valori dei campioni vengono letti sulla curva di calibrazione così costruita.

REAGENTI FORNITI, STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Dimensioni del kit - 50 test e 100 test (tra parentesi). Il kit e tutti i suoi componenti, chiusi o già avviati, devono essere conservati a 2-8°C fino alle date di scadenza indicate.

IGF-I: Tracciante

1 flacone Ref # IG11
(1 flacone Ref # IG12)
5.5 (10.5) ml di IGF-I marcato con ¹²⁵I ($\leq 135\text{kBq} / \leq 270\text{kBq}$) in tampone BSA PBS contenente un colorante rosso. Contiene Bronidox L, 0.05% p/v. Pronto per l'uso.

IGF-I: Antisiero

1 flacone Ref # IGA1
(1 flacone Ref # IGA2)
5.5 (10.5) ml contenenti antisiero di coniglio anti-IGF-I diluito in tampone BSA PBS buffer e un colorante blu. Bronidox L, 0.05% p/v. Pronto per l'uso.

Reagente di separazione

1 flacone Ref # SEP1
(1 flacone Ref # SEP2)
13 (26) ml contenenti anticorpo anti-coniglio di capra legato a particelle di polistirene magnetizzabile in tampone BSA PBS. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Risospendere delicatamente prima dell'uso.

Soluzione acido-etanolo

1 flacone Ref # IGAE1
(1 flacone Ref # IGAE2)
20 (40) ml di 87.5% etanolo in HCl diluito. Mantenere ben chiuso. Pronto per l'uso.

Soluzione neutralizzante

1 flacone Ref # IGNS1
(1 flacone Ref # IGNS2)
20 (40) ml di tampone Tris-fosfato. Pronta per l'uso.

Concentrato di lavaggio

1 flacone Ref # HW1
10 ml di soluzione di lavaggio 15 x concentrata. Contiene sodio azide, 1.5 % p/v. Diluire prima dell'uso.

IGF-I: Calibratori

7 flaconi Ref # IGSA-G
2.0 ml nel Calibratore A e 0.5 ml nei Calibratori B-G, ognuno in BSA PBS. Contiene Bronidox L, 0.05% p/v. Liofilizzato.

IGF-I: Siero di Controllo

1 flacone Ref # IGC1

0.5 ml di siero umano. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Liofilizzato.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE PER GLI UTILIZZATORI

Il trattamento dei campioni e dei componenti del kit, il loro uso, la conservazione e l'eliminazione devono essere effettuati secondo le norme e procedure per la sicurezza di laboratorio locali o nazionali.

Specimen, Calibratori e Controlli

Il materiale originale dei calibratori è stato sottoposto a test con un metodo approvato e accreditato per verificare l'eventuale presenza dell'antigene di superficie dell'epatite B, dell'anticorpo dell'epatite C e dell'anticorpo HIV - 1/2 (AIDS): è risultato non reattivo per nessuno di essi. Tuttavia, si raccomanda di maneggiare tutti i campioni come se potessero trasmettere malattie infettive.

Conservanti

Il kit contiene sodio azide e Bronidox L come conservanti. Siccome i reagenti contengono un conservante potenzialmente tossico, bisogna prestare attenzione, maneggiandoli, ad evitare ingestione o contatto con la pelle. Il sodio azide può reagire con il piombo e le tubature di rame formando azidi potenzialmente esplosive.

Materiale radioattivo

Il tracciante contiene materiale radioattivo.

RACCOLTA E MANEGGIO DEI CAMPIONI

Non è richiesta alcuna preparazione speciale del paziente. I campioni possono essere di siero o plasma, raccolti in modo appropriato per l'analisi di laboratorio. Il siero è preferibile, comunque gli anticoagulanti eparina o EDTA possono essere impiegati senza sacrificare l'accuratezza. Evitare campioni con eccesso emolitico, lipemico o torbidi. I campioni possono essere conservati a 2-8°C fino a 48 ore. Per periodi più lunghi, i campioni devono essere conservati a una temperatura di -20°C o inferiore. Non congelare e scongelare ripetutamente i campioni. Verificare nei campioni scongelati la presenza di materia flocculenta e mescolarli per inversione subito prima del test. I campioni torbidi o contenenti particelle devono essere centrifugati prima dell'uso.

MATERIALI E STRUMENTI NECESSARI MA NON FORNITI

- * Acqua distillata o deionizzata
- * Provette di plastica monouso 12 x 75 mm
- * Pipette di precisione
- * Pipette a ripetizione
- * Agitatore Vortex
- * Agitatore a rulli
- * Timer
- * Centrifuga refrigerata capace di 2000 x g
- * Rack magnetico
- * Carta assorbente
- * Contatore gamma

NOTE DI PROCEDURA

Portare tutti i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolarli delicatamente per inversione.

La contaminazione dei reagenti porta a prestazioni scadenti.

Si raccomanda di operare in duplicato. Si deve realizzare una curva di calibrazione per ogni test.

Tutti i passi del test devono essere eseguiti senza interruzione.

I reagenti sono bilanciati in ogni kit, quindi non si devono mescolare reagenti di lotti diversi.

Prima dell'uso bisogna calibrare adeguatamente il contatore gamma e tutte le pipette da utilizzare.

Se la centrifuga non raggiunge almeno i 2000 x g, il pellet può risultare instabile. In questo caso si deve aumentare il tempo di centrifugazione.

Controllo di qualità

Per assicurare una corretta procedura è bene effettuare un controllo degli specimen ad ogni test. Per approvare il test, i valori di controllo devono situarsi nei range di laboratorio.

PROCEDURA DI ANALISI

Preparazione dei Reagenti

Soluzione di lavaggio

Diluire 1 a 15 il concentrato di lavaggio con acqua deionizzata. La soluzione di lavaggio può essere conservata a temperatura ambiente (20-25°C) per 3 mesi.

Calibratori e Controlli

Per ricostituire i calibratori liofilizzati, aggiungere il volume di acqua deionizzata indicato sull'etichetta di ogni flacone. Lasciare fermi i flaconi fino alla completa dissoluzione (almeno 30 minuti) e poi mescolarli delicatamente per inversione. Le concentrazioni esatte determinate per ogni lotto sono riportate su un'etichetta separata all'interno del kit. Dopo la ricostituzione i calibratori e i controlli devono essere conservati a -20°C.

Reagente di separazione

Mescolare bene su un agitatore a rulli prima dell'uso.

Preparazione del campione /

Procedimento di estrazione

1. Etichettare le provette di estrazione, una per ogni specimen e controllo.
2. Pipettare 100 µl di specimen nelle provette di estrazione.
3. Pipettare 400 µl di soluzione acido-etanolo. Chiudere con il tappo e agitare. Lasciare a temperatura ambiente (20-25°C) per 30 minuti.
4. Centrifugare tutte le provette per 20 minuti a 2000 x g in una centrifuga refrigerata (4°C).
5. Etichettare altre provette, una per ogni specimen/controlli.
6. Trasferire con cura un'aliquota di 50 µl di ogni soprannatante nelle appropriate provette di estrazione.
7. Pipettare 500 µl di Soluzione neutralizzante in ogni provetta. Agitare.

Questo è l'estratto del campione neutralizzato.

Protocollo

Procedimento del test immunoradiometrico

1. Operando in duplicato, disporre e contrassegnare le provette in base al numero di test da effettuare. Includere i Conteggi Totali (TC), il legame non specifico (Non-Specific Binding - NSB -), i calibratori, i controlli/campioni estratti.
2. Pipettare 200 µl del Calibratore A in duplicato nelle provette NSB.
3. Pipettare 100 µl di Campione (calibratore, controllo/ specimen estratto) in duplicato nelle provette appropriate.
4. Pipettare 100 µl di Tracciante IGF-I (rosso) in tutte le provette.
5. Pipettare 100 µl di Anti-siero anti-IGF-I (blu) in tutte le provette tranne quelle NSB e TC.

6. Agitare le provette con delicatezza e incubare 2 ore (o tutta la notte senza agitazione) a temperatura ambiente (20-25°C). Tutte le provette devono essere vuote, tranne quelle NSB e TC.

7. Alla fine del periodo di incubazione, pipettare 250 µl di Reagente di separazione accuratamente mescolato in tutte le provette, eccetto quelle TC, e agitare. Mettere da parte le provette TC, e incubare per 15 minuti senza agitazione a temperatura ambiente (20-25°C).

8a. Per separare l'anticorpo dal tracciante libero marcato, porre le provette nel rack di separazione magnetica ed assicurarsi che tutte siano in contatto con la base magnetica. Lasciarle per 2 minuti.

8b. Non togliere il rack dalla base magnetica. Eliminare il soprannatante versandolo e mantenere la base magnetica capovolta. Picchiettare le provette con decisione su carta assorbente e asciugarne i bordi per rimuovere tutti i residui di soprannatante.

8c. Togliere il rack dalla base magnetica. Pipettare 500 µl di soluzione di lavaggio in tutte le provette. Agitare, lasciar sedimentare sulla base magnetica, versare il soprannatante e far scolare le provette.

9. Misurare le provette per un minuto con un contatore gamma. Misurando più a lungo si ridurrà l'errore statistico di misurazione. Annotare il cpm di ogni provetta.

10. Calcolare i risultati.

CALCOLO DEI RISULTATI

Il calcolo dei risultati può essere effettuato manualmente se non si dispone di programmi di analisi dei dati

- Determinare il cpm (count per minute) medio per le provette duplicate.
- Tracciare la curva di calibrazione su carta semi-logaritmica o logaritmica usando il metodo seguente:

Usare la formula seguente per calcolare la %B/T:

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

- Tracciare la %B/Bo sull'asse y e mentre su quello x si trovano le concentrazioni dei calibratori.

- Leggere i valori dei campioni direttamente dalla curva di calibrazione, come ng/ml.

ESEMPIO DI CALCOLI

ID	cpm medio	%B/Bo	IGF-I (ng/ml)
TC	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
Controllo	7804	46.9	227
Campione 1	10285	63.1	126

CALIBRAZIONE

I calibratori forniti in questo kit sono espressi in ng/mL e calibrati per riferimento contro lo standard (IRR per il IGF-I, 87/518 Est 1988)

La conversione delle unità del calibratore può essere fatta usando la seguente relazione:

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

LIMITAZIONI

I campioni di siero che mostrano un'importante emolisi, lipemia o torbidità possono dare risultati errati.

I campioni che contengono una valutabile radioattività di fondo non devono essere usati. Si deve controllare la radioattività di qualsiasi campione sospetto prima di effettuare l'analisi e, in caso di presenza, il campione deve essere tenuto da parte fino a decadimento della radioattività, oppure si deve richiedere un nuovo campione.

VALORI ATTESI

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca una propria scala di riferimento basata su un campione di popolazione rappresentativo. Il seguente range di riferimento è stato ottenuto analizzando campioni di siero provenienti da individui sani ed è fornito solo come guida:

Età (anni)	n	Media	SD	Mediano	5th Percentile	95th Percentile
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

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Precisione entro la serie

Campione	n	Media ± 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

Precisione fra le serie

Campione	n *	Media ± 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

* in duplicato, scelta dello stesso giorno

Specificità

Analita	Concentrazione testata	IGF-I apparente risultato
GH umano	1000 nmol/l	non detectabile
Prolattina	25000 mIU/l	non detectabile
IGFBP-1	1000 ng/ml	non detectabile
IGFBP-2	1000 ng/ml	non detectabile
IGF-II	4000 ng/ml	non detectabile

Accuratezza

Il recupero è stato calcolato analizzando prima e dopo l'aggiunta di analita esogeno.

Campione	IGF-I (ng/ml) osservato	IGF-I (ng/ml) atteso	% Recupero
1	197	203	97.0
2	241	258	93.4
3	595	602	98.8

Diluizione

Un campione è stato diluito nel calibratore zero, poi testato, quindi si è calcolato il recupero.

Campione	IGF-I (ng/ml) osservato	IGF-I (ng/ml) atteso	% Recupero
Non diluito	456		
1/2	233	228	102.0
1/4	108	114	94.7

Sensibilità

La sensibilità, definita come quella concentrazione di analita corrispondente a due deviazioni standard dalla media della dose risposta variabile del calibratore zero (n=20; misurato in 9 prove), è normalmente inferiore a 1.0 ng/mL. In base all'attuale concentrazione di IGF-I, la sensibilità è di 0.018 ng/mL.

Interferenza

Non si è osservata alcuna interferenza con il recupero dell'analita con concentrazioni di emoglobina superiori a 250 mg/dl, bilirubina superiore a 10 mg/dl e trigliceridi superiori a 970 mg/dl.

INFORMAZIONI PER LE ORDINAZIONI

Il IGF-I RIA è prodotto da:

Bioclone Australia Pty Limited,

71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIA.

Telefono +61 (0) 2 9517 1966 Numero Verde 1800 251 138

Fax +61 (0) 2 9517 2990

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

ASSISTENZA TECNICA

L'assistenza tecnica è disponibile chiamando Bioclone al

+61 (0) 2 9517 1966 o al Numero Verde 1800 251 138

PART No.: KBIGFI Ed6

Data di revisione: 31 Marzo 2006