



# KIT IGF-I RIA

**REF** 10 IGF50  
Σ 50

**REF** 10 IGF100  
Σ 100

ESPAÑOL



## GARANTÍA

El fabricante garantiza únicamente que el kit de diagnóstico mide el analito designado cuando se utiliza según las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Cualquier otro uso del kit de diagnóstico es ajeno a la finalidad para la que ha sido concebido este producto y se realiza por cuenta y riesgo del usuario.

El fabricante rechaza toda garantía implícita de comercialización y conveniencia por uso o utilidad implícita para cualquier otro propósito. Toda indemnización por defecto o error del kit de diagnóstico utilizado según sus instrucciones se limita al valor de reemplazo del kit. La sola obligación de Bioclone Australia Pty Limited y sus distribuidores se limita al reemplazo del producto o a la devolución del precio de la compra. Bioclone Australia Pty Limited no es responsable por perjuicios materiales, lesiones personales, o pérdidas económicas causadas por los productos.

Fabricado por Bioclone Australia Pty Limited

(filial de 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 Número Verde: 1800 251 138

Email sales@bioclone.com.au Web [www.bioclone.com.au](http://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

## USOPREVISTO

El kit IGF-I RIA ha sido creado para la medición diagnóstica cuantitativa *in vitro* del IGF-I (Insulin-like growth factor I o factor de crecimiento insulino-símil tipo I) en suero o en plasma.

## PRINCIPIOS DEL RIA

El RIA es un ensayo inmunoradiométrico de dos anticuerpos. El método incluye una etapa de simple extracción, en la que antes el IGF-I es separado de su proteína ligante en el suero. Después del breve procedimiento de extracción, el analito compete con el anticuerpo trazador marcado con iodo <sup>125</sup>I para atarse a una cantidad constante de anticuerpo.

Se utiliza un segundo anticuerpo atado a las partículas de poliestireno magnetizable (Reactivo de separación) para separar el anticuerpo atado del anticuerpo trazador libre marcado con <sup>125</sup>I. Después de la sedimentación, se descarta el sobrenadante y el pellet que contiene la radioactividad atada se mide con un contador gama. La concentración de analito es inversamente proporcional a la radioactividad atada en el pellet. Los cálculos de los calibradores se ponen en un gráfico y los valores de las muestras se pueden leer en la curva de calibrado construida.

## REACTIVOS SUMINISTRADOS, ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Tamaño del kit - 50 test y 100 test (entre paréntesis). El kit y todos sus componentes, nuevos o ya abiertos, se deben almacenar a 2-8°C hasta las fechas de caducidad indicadas.

## IGF-I: Trazador

**1 vial Ref # IGI1**  
**(1 vial Ref # IGI2)**  
5,5 (10.5) ml de IGF-I marcado con <sup>125</sup>I (≤135kβq / ≤270kβq) en tampón BSA PBS y un colorante rojo. Contiene Bronidox L, 0.05% p/v. Listo para utilizar.

## IGF-I: Antisuero

**1 vial Ref # IGA1**  
**(1 vial Ref # IGA2)**  
5.5 (10.5) ml de antisuero de conejo anti-IGF-I diluido en tampón BSA PBS y un colorante azul. Bronidox L, 0.05% p/v. Listo para utilizar.

## Reactivo de separación

**1 vial Ref # SEP1**  
**(1 vial Ref # SEP2)**  
13 (26) ml de anticuerpo anti-conejo de cabra atado a partículas de poliestireno magnetizable en tampón di poliestireno magnetizable BSA PBS. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Resuspender suavemente antes del uso.

## Solución alcohol-ácido

**1 vial Ref # IGAE1**  
**(1 vial Ref # IGAE2)**  
20 (40) ml de 87.5% etanol en HCl diluido. Mantener bien cerrado. Listo para utilizar.

## Solución de neutralización

**1 vial Ref # IGNS1**  
**(1 vial Ref # IGNS2)**  
20 (40) ml de tampón Tris-fosfato. Lista para utilizar.

## Concentrado de lavado

**1 vial Ref # HW1**  
10 ml de solución de lavado 15 x concentrada. Contiene azida de sodio, 1.5 % p/v. Diluir antes de usar.

## IGF-I: Calibradores

**7 viales Ref # IGSA-G**  
2.0 ml en el Calibrador A y 0.5 ml en los Calibradores B-G, cada uno en BSA PBS. Contiene Bronidox L, 0.05% p/v. Liofilizado.

## IGF-I: Suero de Control

**1 vial Ref # IGC1**  
0.5 ml de suero humano. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Liofilizado.

## PRECAUCIONES Y RECOMENDACIONES PARA EL USUARIO

El manejo de las muestras y de los componentes del kit, su uso, almacenamiento y eliminación, debe desarrollarse en acuerdo con los procedimientos y las normas locales o nacionales para la seguridad en el trabajo de laboratorio.

## Especímenes, Calibradores y Controles

El material original de los calibradores ha sido examinado con un método aprobado y acreditado para averiguar la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B, del anticuerpo de la hepatitis C y del anticuerpo HIV - 1/2 (AIDS): se ha encontrado que no es reactivo para ninguno de ellos. Sin embargo, se recomienda que todas las muestras se manejen como si pudieran transmitir enfermedades infecciosas.

## Agentes conservadores

El kit contiene azida de sodio y Bronidox L como agentes conservadores. Como los reactivos contienen agentes conservadores potencialmente tóxicos, durante su manejo hay que tener cuidado para evitar la ingestión o el contacto con la piel. La azida de sodio puede reaccionar con plomo y tuberías de cobre formando azidas potencialmente explosivas.

## Material radioactivo

El trazador contiene material radioactivo.

## RECOGIDA Y MANEJO DE LOS ESPECÍMENES

No se necesita ninguna preparación especial del paciente. Las muestras pueden ser de suero o plasma, recogidas en modo apropiado para el análisis. El suero es preferible, pero el anticoagulante heparina o el EDTA se pueden utilizar sin sacrificar la exactitud.

Evitar las muestras con exceso de hemólisis, lipemia o turbios.

Las muestras se pueden almacenar a 2-8°C hasta 48 horas. Por periodos más largos, las muestras se deben conservar a una temperatura de -20°C o inferior.

No congelar y descongelar repetidamente las muestras.

Averiguar en las muestras descongeladas la presencia de materia flocculenta y mezclarlas por inversión justo antes de la prueba. Las muestras turbias o que contienen partículas se deben centrifugar antes del uso.

## MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

- \* Agua destilada o desionizada
- \* Tubos de plástico desechables para análisis con tapones 12 x 75 mm
- \* Pipetas de precisión
- \* Pipetas repetidoras
- \* Agitador Vortex para microplacas
- \* Agitador rotatorio
- \* Timer
- \* Centrifugadora refrigerada capaz de 2000 x g
- \* Rack magnético
- \* Papel de filtro
- \* Contador gama

## NOTAS DE PROCEDIMIENTO

Llevar a temperatura ambiente (20-25°C) todos los reactivos y las muestras y mezclarlos suavemente por inversión antes del uso.

Se recomienda trabajar por duplicado.

La contaminación de los reactivos lleva a prestaciones de calidad inferior.

Se debería realizar una curva de calibrado para cada test.

Todas las etapas del ensayo deben realizarse sin interrupción.

Los reactivos están apareados en cada kit, por consiguiente no se deben mezclar reactivos de lotes diferentes.

Antes del uso hay que calibrar adecuadamente el contador gama y todas las pipetas para utilizar.

Si la centrifugadora no alcanza al menos los 2000 x g, el pellet puede resultar inestable. En este caso hay que aumentar el tiempo de centrifugación.

## Control de Calidad

Para asegurar un procedimiento correcto, hay que efectuar un control de los especímenes en cada ensayo. Para aprobar el ensayo, los valores de control deben situarse dentro de los valores límites de laboratorio.

## MÉTODODE ENSAYO

### Preparación de los Reactivos

#### Solución de lavado

Diluir 1 en 15 el concentrado de lavado con agua desionizada. La solución de lavado se puede conservar a temperatura ambiente (20-25°C) por 3 mes.

#### Calibradores y controles

Para reconstituir los calibradores liofilizados, añadir el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta de cada vial. Dejar tranquilos los viales hasta la disolución completa (al menos 30 minutos), luego mezclarlos suavemente por inversión. Las concentraciones exactas determinadas para cada lote están declaradas en una etiqueta separada, presente en el interior del kit.

Después de la reconstitución, los calibradores y los controles se deben almacenar a -20°C.

#### Reactivo de separación

Mezclar bien en un agitador con rulos antes de su utilización.

#### Preparación de la muestra/ Procedimiento de extracción

1. Contraseñar los tubos de extracción, una para cada espécimen y control.
2. Pipetear 100 µl di espécimen en los tubos de extracción.
3. Pipetear 400 µl de solución alcohol-ácido. Cerrar con el tapón y agitar. Dejar a temperatura ambiente (20-25°C) por 30 minutos.
4. Centrifugar todos los tubos por 20 minutos a 2000 x g en una centrifugadora refrigerada (4°C).
5. Contraseñar otros tubos, uno para cada espécimen.
6. Transferir con cuidado una alcuota de 50µl de cada sobrenadante en los tubos de extracción apropiados.
7. Pipetear 500µl de Solución de neutralización en cada tubo. Agitar.

Este es el extracto de la muestra neutralizada.

#### Protocolo

#### Procedimiento del ensayo inmunoradiométrico

1. Por duplicado, preparar y contraseñar los tubos necesitados en base al número de test a efectuar. Incluir los Cálculos Totales (TC), el NSB (Non-Specific Binding), los calibradores, los controles y las muestras extraídas.
2. Pipetear 200 µl del Calibrador A en duplicado en los tubos NSB.
3. Pipetear 100 µl de Muestra (calibrador, control/ espécimen extraído) en duplicado en los tubos apropiados.
4. Pipetear 100 µl de Trazador IGF-I (rojo) en todos los tubos.
5. Pipetear 100 µl de Anti-suero anti-IGF-I (azul) en todos los tubos, menos en los NSB y TC.
6. Agitar los tubos suavemente e incubar por 2 horas (o toda la noche sin agitación) a temperatura ambiente (20-25°C). Todos los tubos deben ser violeta, exceptuados los NSB y TC.
7. Después de la incubación, pipetear 250 µl de Reactivo de separación bien mezclado en todos los tubos, menos los TC, y agitar. Poner de lado los tubos TC, e incubar por 15 minutos sin agitación a temperatura ambiente (20-25°C).

#### CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

El cálculo de los resultados puede efectuarse manualmente si no se dispone de programas de análisis de datos.

1. Determinar el cpm (count per minute) medio por los tubos duplicados.
2. Trazar la curva de calibrado en papel semi-logarítmico o logarítmico usando el método siguiente:

Utilizar la fórmula siguiente para calcular la %B/T:

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

3. Trazar la %B/T en el eje y mientras que en el eje x se encuentran las concentraciones de los calibradores.
4. Leer los valores de las muestras directamente de la curva de calibrado, en ng/ml.

#### EJEMPLO DE CÁLCULOS

| 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          |
| Control   | 7804      | 46.9  | 227           |
| Muestra 1 | 10285     | 63.1  | 126           |

#### CALIBRADO

Los calibradores proporcionados en este kit están expresados en ng/ml y calibrados por referencia con el estándar (IRR para el IGF-I, 87/518 Est 1988)

La conversión de las unidades del calibrador se puede hacer utilizando la relación siguiente:

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

#### LIMITACIONES

Las muestras de suero con importante hemólisis, lipemia o turbiedad pueden dar falsos resultados.

Las muestras que contienen una radioactividad de fondo valorable no deben ser utilizadas. Toda muestra sospecha debe ser controlada frente a la radioactividad antes de efectuar la prueba y, en caso de que haya radioactividad, debe ser alejada hasta decaimiento de la misma, o bien hay que pedir una nueva muestra.

8a. Para separar el anticuerpo del trazador libre marcado, poner los tubos en el rack de separación magnética y asegurarse que todos están en contacto con la base magnética. Dejarlos por 2 minutos.

8b. No quitar el rack de la base magnética. Descartar el sobrenadante vertiéndolo y mantener la base magnética invertida. Golpetear los tubos firmemente sobre papel de filtro y secar los bordes para eliminar todo residuo de sobrenadante.

8c. Quitar el rack de la base magnética. Pipetear 500 µl de solución de lavado en todos los tubos. Agitar, dejar sedimentar en la base magnética, descartar el sobrenadante y dejar escurrir los tubos.

9. Medir los tubos por un minuto con un contador gama. Una medición más prolongada reduce el error estadístico de medición. Anotar los cpm de cada tubo.

10. Calcular los resultados.

#### VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia escala de referencia basada en una población-testigo representativa. El range de referencia siguiente se ha obtenido analizando muestras de suero procedentes de individuos sanos y se proporciona sólo como ejemplo:

| Edad (años)         | n   | Media | SD    | Mediano | 5th Percentil | 95th Percentil |
|---------------------|-----|-------|-------|---------|---------------|----------------|
| (Hombres & Mujeres) |     |       |       |         |               |                |
| 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            |

#### CARACTERÍSTICAS DE LA MEDIDA

##### Precisión Intra-serie

| Muestra | 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 |

##### Precisión Inter-serie

| Muestra | 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 |

\* duplicado, elección del mismo día

##### Especificidad

| Analito    | Concentración ensayada | IGF-I aparente resultado |
|------------|------------------------|--------------------------|
| GH humano  | 1000 nmol/l            | no detectable            |
| Prolactina | 25000 mIU/l            | no detectable            |
| IGFBP-1    | 1000 ng/ml             | no detectable            |
| IGFBP-2    | 1000 ng/ml             | no detectable            |
| IGF-II     | 4000 ng/ml             | no detectable            |

##### Exactitud

La recuperación analítica ha sido calculada ensayando antes y después de la adición de analito exógeno.

| Muestra | IGF-I (ng/ml) observado | IGF-I (ng/ml) esperad | % Recuperación |
|---------|-------------------------|-----------------------|----------------|
| 1       | 197                     | 203                   | 97.0           |
| 2       | 241                     | 258                   | 93.4           |
| 3       | 595                     | 602                   | 98.8           |

##### Dilución

Una muestra ha sido diluida en el calibrador cero, ensayada y se ha calculado la recuperación.

| Muestra    | IGF-I (ng/ml) observado | IGF-I (ng/ml) esperado | % Recuperación |
|------------|-------------------------|------------------------|----------------|
| No diluido | 456                     |                        |                |
| 1/2        | 233                     | 228                    | 102.0          |
| 1/4        | 108                     | 114                    | 94.7           |

##### Sensibilidad

La sensibilidad, definida como aquella concentración de analito que dista dos desviaciones estándar de la media de la variable dosis-respuesta del análisis del calibrador cero (n=20; medida en 9 pruebas), es típicamente inferior a 1.0 ng/ml. Según la concentración actual de IGF-I, la sensibilidad es de 0.018 ng/ml.

##### Interferencia

No se ha observado ninguna interferencia con la recuperación del analito con concentraciones de hemoglobina superiores a 250 mg/dl, bilirrubina superior a 10 mg/dl y triglicéridos superiores a 970 mg/dl.

#### INFORMACIÓN PARA PEDIDOS Y SERVICIO TÉCNICO

El IGF-I RIA es fabricado por:

Bioclone Australia Pty Limited,

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

Teléfono +61 (0) 2 9517 1966

Número verde 1800 251 138

Fax +61 (0) 2 9517 2990

Email sales@bioclone.com.au

Web www.bioclone.com.au

#### SERVICIO TÉCNICO

Servicio técnico disponible llamando a Bioclone al +61 (0) 2 9517 1966 o Número verde 1800 251 138