

## НАБІР ІФА

# ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛЮДСЬКОГО ІНСУЛІН-ПОДІБНОГО ФАКТОРУ РОСТУ-I (IGFBP-БЛОКОВАНИЙ)

## E20, IGF-I ELISA

Каталог. №: E20

Кількість : 96

Виробник : Mediagnost (Німеччина)

Методика від 26-08-2016

Версія 14



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадатти.

IGF-I ELISA E20	96 Визначення
Маркування СЄ	DE/CA40/00809/20
Принцип тесту	Імуноферментний аналіз
Тривалість (інкубаційний період)	1,75 години
Антитіла	специфічні моноклональні антитіла і з високої спорідненості поліклональна антисироватка
Перехресна реактивність з IGF-II, Інсуліном, С-пептидом	<0,1%
Буфер	Готовий до використання і 20X концентрат
Стандарт	5 одиночних стандартів: 2-50 нг/мл, рекомбінантні IGF-I людини
Довідкові матеріали	Міжнародний стандарт NIBSC WHO 02/254
Діапазон Аналіз	0,09 - 1050 нг/мл
Контроль	2 контрольні сироватки, ліофілізовані
Зразок	людська сироватка/плазма
Необхідний обсяг зразка	10 мкл
Розведення зразка	1:21
Аналітична чутливість	0,09 мкг/л
Варіабельність в аналізі і між аналізами	<10%

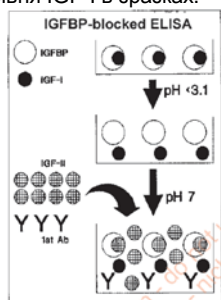
### 1 ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Даний набір є імуноферментним аналізом та призначений для вимірювання IGF-I людини в зразках сироватки та плазми. У поєднанні з затримкою росту і іншими клінічними симптомами, результати цієї тест-систем можуть бути використані в якості додаткових даних для оцінки порушень осі гормону росту.

### 2 ВСТУП (Див. оригінал інструкції).

### 3 ПРИНЦИП РОБОТИ

Mediagnost ІФА для визначення IGF-I E20 являє собою так званий сендвіч-аналіз з використанням двох специфічних антитіл високої спорідненості. IGF-I в зразках зв'язується з першим антитілом, нанесеним на мікротитраційний планшет, біотинильоване і кон'юговане з стрептавідин-пероксидазою друге специфічне антитіло анти-IGF-I, в свою чергу, зв'язується з іммобілізованим IGF-I. В кінцевій реакції субстрату розвиток кольору буде високо специфічним, таким, що каталізується кількісно в залежності від рівня IGF-I в зразках.



Малюнок 2 Принцип ІФА IGF-I блокуваного IGF-I

Для того, щоб дисоціювати IGF-I від IGFBP, зразки повинні бути розведені в кислому буфері (Буфер для Зразків РР) (Мал. 2). Розведені зразки потім піпетуються в лунки, цим нейтралізується значення рН. Після нейтралізації зразків, надлишкові IGF-II займають IGF-зв'язуючі сайти зв'язування білків, що дозволяє вимірювати отримане значення вільного IGF-I. За допомогою цього методу, при тому, що IGFBP не видаляються, але їх функції і, отже, їх втручання в аналізі нейтралізуються. Через надзвичайно низьку перехресну реактивність антитіл IGF-I з IGF-II, надлишок IGF-II не порушує взаємодію з

IGF-I. Тест працює як звичайний ІФА з використанням Ферментного Кон'югату Стрептавідин-Пероксидази.

### 4 ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Тільки для діагностики в лабораторних умовах.

Тільки для професійного використання.

Перед початком аналізу прочитайте інструкцію повністю й уважно. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладеної в упаковку, що постачається в комплекті. Переконайтеся, що все зрозуміло.

**Увага: Цей набір містить матеріали людського та/або тваринного походження. Всі компоненти набору та зразки пацієнтів вважати потенційно інфекційними.**

### Людська сироватка

Наступні компоненти містять сироватку людини: **Контрольна сироватка KS та KS2.**

Джерела сироваток людини були протестовані рекомендованими FDA методами і виявили відсутність реакції на поверхневий антиген до Гепатиту В (HBsAg), на антитіла до Вірусу гепатиту С (HCV), і Вірусу імунодефіциту людини 1 і 2 (ВІЛ).

Жоден з відомих методів випробувань не може запропонувати повну впевненість у відсутності інфекційних агентів, тому всі компоненти і зразки пацієнта повинні розглядатися як потенційно інфекційні.

### Реагенти А-Е, АК, ЕК, VP, WP

Містять в якості консерванту суміш **5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он** і **2-метил-4-ізотіазолін-3-он** (< 0.015%)

- H317 Може викликати алергічну реакцію шкіри.
- P280 Вдягати захисні рукавички/захисний одяг/засоби захисту очей/обличчя.
- P272 Забруднений одяг не слід виносити за межі робочого місця.
- P261 Уникати вдихання пилу/диму/газу/туману/парів/аерозолів.
- P333+P313 Якщо є подразнення шкіри або висип: Звернутися за медичною допомогою / консультацією.
- P302+P352 ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКИРУ: Промити великою кількістю води і мила.
- P501 Видалити вміст/контейнер відповідно до місцевих / регіональних/національних/міжнародних правил.

### Розчин субстрату (S)

Субстрат ТМБ (S) містить 3,3', 5,5' Тетраметилбензидин (< 0.05%)

- H315 Викликає подразнення шкіри.
- H319 Викликає серйозне роздратування очей.
- H335 Може викликати подразнення дихальних шляхів.
- P261 Уникати вдихання пилу/диму/газу/туману/парів/аерозолів.
- P305+P351 ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промити очі водою протягом декількох хвилин.
- P338 Зняти контактні лінзи, якщо вони присутні і легко знімаються. Продовжити промивання.

### Стоп-Розчин (SL)

Стоп-Розчин містить 0.2 М сірчаної кислоти (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

- H290 Може викликати корозію металів.
- H314 Викликає серйозні опіки шкіри та подразнення очей.
- P280 Вдягати захисні рукавички/захисний одяг/засоби захисту очей/обличчя.
- P301+P330 ПРИ КОВТАННІ: прополоскати рот.
- P331 НЕ викликати блювоту.
- P305+P351 ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промити очі водою протягом декількох хвилин.
- P338 Зняти контактні лінзи, якщо вони присутні і легко знімаються. Продовжити промивання.
- P309+P310 ПРИ впливі або якщо ви відчуваєте нездужання: негайно звернутися в токсикологічний центр або до лікаря-фахівця / терапевта.

### 4.1 Загальні заходи швидкої допомоги:

Контакт зі шкірою: Промити уражену ділянку водою. Позбутися забрудненого одягу і взуття.

Попадання в очі: У разі попадання в очі негайно промити великою кількістю води протягом 15 хвилин.

З метою забезпечення дієвого полоскання розкрити очі.

Попадання всередину: Прокотвнувши прополоскати рот ретельно з водою. Відразу звернутися до лікаря.

## 5 ЗРАЗКИ

### 5.1 Тип зразка

Сироватка і плазма

Сироватка і Гепаринова/ЕДТА плазма дають порівняні значення. Рівні IGF-I знижені в зразках цитратної плазми, через відносно велику кількість антикоагулянту.

### 5.2 Збір зразків

Використовуйте стандартну венепункцію для забору крові. Гемолізованих реакцій слід уникати.

### 5.3 Необхідний обсяг проби: 10 мкл

### 5.4 Стабільність Зразка

У щільно закритих пробірках для зразків:

- Зберігання при температурі 20-25 °C: максимум 24 години
- Зберігання при -20 °C: мінімум 2 роки
- Циклів заморожування-відтавання: максимум 3

Зберігання зразків протягом 2 років при -20 °C не показало жодного впливу на результати. Заморожування і відтавання зразків повинно бути зведене до мінімуму. 3 цикли заморожування-відтавання не показали ніякого впливу на зразки.

### 5.5 Інтерференція


Тригліцериди, білірубін і гемоглобін в зразку не інтерферують до концентрації 100 мг/мл і 200 мкг/мл або 1 мг/мл. Тим не менше, використання гемолітичних, ліпемічних або жовтяничних зразків необхідно уникати.

### 5.6 Розведення зразка

- Розведення 1:21 з Буфером для Зразка **PP**
- Піпетувати **200 мкл Буфера для Зразка PP** в РЕ-/PP-Пробірку (застосування мульти-крокового пристрою для внесення рекомендується в більшій серії); додати **10 мкл проби** (розведення 1:21). Після змішування використовувати 2 x 20 мкл цього розчину в аналізі.
- Увага: зразки сироватки та плазми повинні бути розведені, щонайменше, 1:10 з **Буфером для Зразків PP** для того, щоб досягти достатнього підкислення зразків.
- В залежності від очікуваного значення IGF-I зразки можуть бути розведені вище з **Буфером для Зразків PP**.
- Стабільність зразка після розведення зразка: максимум 2 години при температурі 20-25 °C.

## 6 МАТЕРІАЛИ

### 6.1 Матеріали, що постачаються

MTP	Мікропланшет, готовий до використання, покритий мишачим анти-IGF-I антитілом; лунки роздільні.	(8x12) лунок
A-E	Стандарти, ліофілізовані, (рекомбінантний hIGF-I людини), Концентрації наведені на етикетках флаконів і в сертифікаті аналізу якості.	5x500 мкл
KS1	Контрольна сироватка 1, ліофілізована, (сироватка людини), концентрація наведена в сертифікаті аналізу якості.	1x500 мкл
KS2	Контрольна сироватка 2, ліофілізована, (сироватка людини), концентрація наведена в сертифікаті аналізу якості.	1x500 мкл
AK	Кон'югат антитіл, готовий до використання, містить біотинильовані анти-IGF-I антитіла козла.	1x9 мл
EK	Ферментний кон'югат, готовий до використання, містить Пероксидазу хрому, кон'юговану зі Стрептавідином.	1x12 мл
PP	Буфер для зразків, готовий до використання.	1x25 мл
WP	Промивний Буфер, 20-кратний концентрований розчин.	1x50 мл
S	Субстрат, готовий до використання, субстрат пероксидази хрому (HRP), стабілізований Тетраметилбензидином.	1x12 мл
SL	Стоп-розчин, готовий до використання, 0.2 М сірчана кислота.	1x12 мл
-	Ущільнювальна стрічка, для покриття поверхні лунок планшета.	2x
	Інструкції з використання	1x
--	Сертифікат якості	1x

### 6.2 Необхідні матеріали, які не надаються

- Дистильована або деіонізована вода для розведення Промивного Буфера **WP, 950 мл**
- Точні піпетки і багатоканальні піпетки зі змінними пластиковими наконечниками
- Вортексний міксер
- Мікропланшетний Шейкер (350 об/хвилину)
- Мікропланшетний Вошер (рекомендується)

- Мікропланшетний Рідер ("ІФА-рідер") з фільтром на 450 і ≥ 590 nm

## 7 ТЕХНІЧНІ ПРИМІТКИ

### Умови зберігання

Зберігати набір при 2-8 °C до закінчення його терміну придатності. Ліофілізовані реагенти слід зберігати при -20 °C після відновлення. Уникайте повторного відтавання і заморожування.

### Термін зберігання

Термін зберігання компонентів після першого відкриття становить 4 тижні; зберігати невикористані смужки і мікропланшет герметично закритими разом з осушувачем при 2-8 °C в пакеті з замком, використовувати тримачі. Відновлені компоненти стандарти **A-E** та Контрольних Сироваток **KS1** і **KS2** необхідно зберігати при -20 °C (максимум 4 тижні). Для подальшого використання, розморозити швидко, але обережно (щоб уникнути підвищення температури вище кімнатної температури і уникнути надмірного змішування). До 3 циклів заморожування-відтавання не впливають на аналіз. Розведення 1:20 Промивного Буфера **WP** залишається стабільним 4 тижні при 2-8 °C.

### Підготовка реагентів

Довести всі реагенти до кімнатної температури 20-25 °C перед використанням. Можливі опади у буферах повинні бути розчинені перед використанням шляхом змішування і/або підігріву. Реагенти з різних серій не можуть бути змішані.

### Відновлення

Стандарти **A-E** і Контролі **KS1** і **KS2** відновлюють з Буфером для Зразків **PP**. Рекомендуються тримати відновлені реагенти при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, а потім змішати їх ретельно, але обережно (без утворення піни) з вихровим змішувачем.

### Розведення

Після відновлення розбавити Контролі **KS1** і **KS2** з Буфером для Зразків **PP** в тому ж співвідношенні (1:21) як і зразки. Необхідний обсяг Промивного Буфера **WP** отримують шляхом розведення 1:20 наданого 20x концентрату з дистильованою водою.

### Процедура аналізу

При виконанні аналізу, Бланк, Стандарти **A-E**, Контролі **KS1** і **KS2** та зразки піпетувати якомога швидше (наприклад, < 15 хвилин). Щоб уникнути спотворень через відмінності в часі інкубації Кон'югат Антитіл **AK** і Ферментний Кон'югат **EK**, а також **Розчин Субстрату S** слід додати до пластини в тому порядку і з тим же інтервалом в часі, що і зразки. **Стоп-розчин SL** слід додати до пластини в тому ж порядку, що і **Розчин Субстрату S**.

Всі визначення проводити в дублях. Для отримання оптимальних результатів дотримуватись точного піпетування та положень інструкції.

### Інкубація

Інкубація при кімнатній температурі означає: інкубація при 20-25 °C. Розчин субстрату **S**, стабілізований ТМБ, є світлочутливим - зберігати і проводити інкубацію в темряві.

### Струшування

Стадію інкубації слід проводити при середній частоті обертання шейкера мікротитрувального планшета. Ми рекомендуємо 350 оборотів в хвилину. Залежно від конструкції шейкера, частота струшування повинна бути скоригована. Недостатнє струшування може призвести до недостатнього змішування розчинів і тим самим до низької оптичної щільності, високих варіацій і/або помилкових значень; надмірне струшування може призвести до високих оптичних щільностей і/або помилкових значень.

### Промивання

Правильне промивання має принципове значення для безпечного, надійного та точного виконання тесту. Неповне промивання є частію помилкою і негативно позначається на тестовому результаті. Можливими наслідками можуть бути не контрольовані неспецифічні варіації вимірюваних оптичних густин, що може призвести до помилкових результатів розрахунків досліджених зразків. Ефекти, такі як високі фонові значення або високі варіації, можуть вказувати на проблеми промивання.

Всі промивання повинні виконуватися за допомогою доданого Промивального Буфера **WP**, розведеного до концентрації використання. Обсяг на цикл промивки та на лунку має бути 300 мкл, щонайменше.

При використанні **автоматичного мікропланшетного вошера**, відповідні інструкції щодо використання мають бути дотримані. Повинні бути виконані налаштування пристроїв, наприклад,

геометрія пластини і наданих параметрів промивання. Колектор для дозування та аспірації не повинен дряпати поверхню всередині лунки. Розрахунки повинні бути зроблені таким чином, щоб обсяг залишкової рідини кожного кроку аспірації зводився до мінімуму. Після останнього кроку аспірації кожного циклу промивки, це можна контролювати, і можливий залишок рідини може бути видалений, перевертанням планшета і неодноразовим постукуванням ним по сухому фільтрувальному паперу.

**Ручне промивання** є адекватним альтернативним варіантом. Промивний Буфер може бути розподілений через мультикроковий пристрій, за допомогою багатоканальної піпетки, або пульверизатор. Рідина може бути вилучена шляхом динамічного витрушування з планшета в раковину. Якщо використовуються аспіраційні пристрої, переконайтеся, що поверхня всередині лунки не дряпається. Після кожного кроку промивання можливий залишок рідини може бути видалений перевертанням планшета і неодноразовим постукуванням ним по сухому фільтрувальному паперу.

## 8 ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Підготовка реагентів		Відновлення:	Розведення
A-E	Стандарти	в 500 мкл Буфера для Зразків PP	-
KS1	Контрольна сироватка 1	в 500 мкл Буфера для Зразків PP	1:21 з Буфером для Зразків PP
KS2	Контрольна сироватка 2	в 500 мкл Буфера для Зразків PP	1:21 з Буфером для Зразків PP
WP	Промивний буфер	-	1:20 з Дист. водою

**Зразок + Контрольна сироватка KS1 та KS2: розвести 1:21 в Буфері для Зразків PP, перемішати негайно, інкубувати максимум 2 години. Використовувати 20 мкл для кожної лунки в аналізі.**

Перед початком аналізу довести всі реагенти до кімнатної температури (20-25 °C).

### Процедура аналізу з подвійним визначенням

Піпетувати	Реагенти	Позиція
80 мкл	Кон'югат Антитіл АК	у <b>всіх</b> використовуваних лунках
20 мкл	Буфер для Зразків PP (Бланк)	A1/A2
20 мкл	Стандарт <b>A (2 нг/мл)</b>	B1/B2
20 мкл	Стандарт <b>B (5 нг/мл)</b>	C1/C2
20 мкл	Стандарт <b>C (15 нг/мл)</b>	D1/D2
20 мкл	Стандарт <b>D (30 нг/мл)</b>	E1/E2
20 мкл	Стандарт <b>E (50 нг/мл)</b>	F1/F2
20 мкл	Контрольна Сироватка <b>KS1</b> (1:21 розведення)	G1/G2
20 мкл	Контрольна Сироватка <b>KS2</b> (1:21 розведення)	H1/H2
20 мкл	Зразок (1:21 розведення)	в решті лунок, відповідно до ваших вимог

Накрити лунки плівкою.

**Інкубація зразка: 1 година при 20-25 °C, 350 об./хв.**

5 x 300 мкл	Видалити вміст лунок і промити 5x з 300 мкл Промивного Буфера <b>WP на кожну лунку</b>	В кожній лунці
100 мкл	Ферментний Кон'югат <b>EK</b>	В кожній лунці

Накрити лунки плівкою.

**Інкубація: 30 хвилин при 20-25 °C, 350 об./хв.**

5 x 300 мкл	Видалити вміст лунок і промити 5x з 300 мкл Промивного Буфера <b>WP на кожну лунку</b>	В кожній лунці
100 мкл	Розчин Субстрату <b>S</b>	В кожній лунці

**Інкубація: 15 хвилин в темноті при 20-25 °C**

100 мкл	Стоп Розчин <b>SL</b>	В кожній лунці
---------	-----------------------	----------------

Виміряти ОЩ протягом 30 хвилин при **450 нм** з референтною довжиною хвилі  $\geq 590$  нм.

## 9 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Належна лабораторна практика (GLP) вимагає, щоб контролю були включені в кожний аналіз. Статистично значуща кількість контролів повинна бути проаналізована, щоб встановити середні значення і прийнятні діапазони для забезпечення належної роботи. Результати випробувань дійсні тільки якщо випробування було проведено відповідно до інструкцій. Крім того, користувач повинен строго дотримуватися правил GLP (Good Laboratory Practice) та інших застосовуваних федеральних, державних та місцевих стандартів/законів. Всі стандарти і контролі в наборах повинні бути в межах прийнятних діапазонів, як зазначено в Сертифікаті QC. Якщо критерії не виконуються, аналіз не є дійсним і повинен бути повторений. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі

зразки в якості додаткових контролів.

## 9.1 Критерії якості

Для оцінки аналізу потрібно, щоб значення абсорбції бланка були нижче 0,25, і абсорбція стандарту E повинна бути вище 1,00. Зразки, які дають більш високі значення абсорбції, ніж **Стандарт E**, повинні бути повторно протестовані з більш високим розведенням.

## 10 ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ

### 10.1 Побудова стандартної кривої

Міжнародний стандарт для hIGF-I, BOO3 NIBSC код 02/254 був використаний в якості стандартного матеріалу, і можуть бути використані наступні концентрації IGF-I.

Стандарт	A	B	C	D	E
нг/мл	2	5	15	30	50
нмоль/л	0.26	0.66	1.96	3.92	6.54

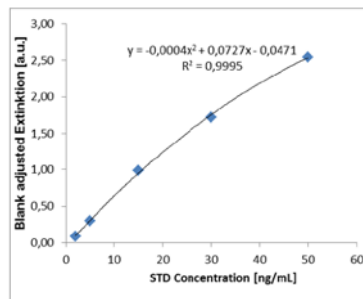
- 1) Розрахувати **середнє значення абсорбції** для бланка з дубльованого визначення (лунка A1/A2).
- 2) Відняти середню абсорбцію бланка від середніх абсорбцій всіх інших значень.
- 3) Відкласти значення концентрацій стандартів по осі x навпроти середніх значень оптичної щільності стандартів на осі ординат.
- 4) Рекомендація: Розрахунок стандартної кривої має бути зроблено за допомогою комп'ютерної програми, тому що крива в цілому (без відповідного перетворення) не ідеально описує лінійну регресію. Як правило, підходять наступні методи для оцінки: **Вищого класу поліноміальний, 4-параметричний логістичний (4-PL) або нелінійної регресії.**
- 5) **Концентрація в нг/мл в зразках може бути обчислена шляхом множення на відповідний коефіцієнт розведення.**

### 10.2 Приклад типової стандартної кривої

Наступні дані тільки для демонстрації і не можуть бути використані замість генерації даних під час аналізу.

	Blank	A	B	C	D	E
ng/mL	0.0	2	5	15	30	50
OD(450-620 nm)	0.00	0.088	0.299	0.985	1.727	2.543

Наведена для зразка стандартна крива на Малюнку 3 **не може** бути використана для розрахунку ваших результатів випробувань. Ви повинні встановити стандартну криву для кожного тесту!



Малюнок 3 Приклад стандартної кривої

### 10.3 Приклад розрахунку концентрацій IGF-I

Розведення зразка 1:21

Виміряна ОЩ бланка 0.0165  
Виміряна ОЩ вашого зразка 0.2695

Ваша програма вимірювання буде розрахувати концентрацію IGF-I розведеного зразка автоматично, використовуючи різницю зразка і бланка для розрахунку. Вам потрібно лише визначити найбільш підходящу криву (тут: поліном третього ступеня). У цьому прикладі таке рівняння вирішується за допомогою програми для розрахунку концентрації IGF-I в зразку:

$$0,253 = -0.0004x^2 + 0.0727x - 0.0471$$

$$4.57 = x$$

Якщо коефіцієнт розведення (1:21) враховується, концентрація IGF-I в нерозведеному зразку буде наступною  
4.57 нг/мл x 21 = 96 нг/мл

### 10.4 Інтерпретація результатів

Результати випробувань не повинні бути єдиною основою для прийняття терапевтичних рішень. Результати слід інтерпретувати в поєднанні з анамнезом, подальшими клінічними спостереженнями і результатами інших діагностичних досліджень. Крім того, рекомендується встановити референтне значення і значення cut-off, відповідні встановленій групі пацієнтів, для кожної з лабораторій. Рекомендується розглянути міжнародні та національні рекомендації

з діагностики та лікування зростання дефіциту гормону/акромегалії.

## 11 ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Рівні IGF-I залежать значною мірою від секреції GH. Зменшені значення IGF-I, однак, не доводять дефіцит гормону росту, так як ряд інших факторів може впливати на концентрацію в плазмі IGF-I і, отже, повинні бути прийняті до уваги для правильної інтерпретації. Рівні IGF-I зменшуються під час голодування (більше 1 дня), в результаті недоїдання, порушення всмоктування, кахексії, порушення функції печінки або при гіпотиреозі і невеликому цукровому діабеті. Вони також можуть бути низькими при хронічних запальних захворюваннях і злоякісних новоутвореннях. Рівні IGF-I є високими в стані прискореного статевого розвитку. У клінічних ситуаціях з гіперпролактинемією або у пацієнтів з краніофарингіомами, нормальний рівень може спостерігатися, незважаючи на дефіцит GH. Наприкінці вагітності рівень IGF-I помірно підвищений.

## 12 РЕФЕРЕНТНІ ЗНАЧЕННЯ

Рівні IGF-I сильно залежать від віку дітей, меншою мірою у дорослих у віці до 60. Нормальні діапазони в різних вікових групах, які є лог-нормально розподілені, наведені в таблиці 5 по процентилям. У віці між 8 і 19 років, значення наведені для хлопчиків і дівчаток окремо, тому що пубертатний пік зазвичай відбувається близько 2 років раніше у дівчаток. Графічне представлення показано на малюнках 4, 5 і 6. Одна з основних проблем для інтерпретації значень IGF-I пов'язана з тим, що низький зріст є часто причиною у затримці в розвитку, а не через будь-які метаболічні або ендокринні розлади (конституційна затримка росту та підлітковий вік). Тому різке підвищення рівня IGF-I в період статевого дозрівання може привести до деякої невизначеності щодо того, чи буде доцільним пов'язати виміряні значення з хронологічним віком. Рекомендується взяти до уваги пубертатний період (Табл. 1), щоб отримати більш повну картину ситуації, що склалася.

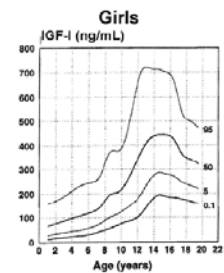


Fig. 4.: Age-dependent reference range of serum IGF-I levels in girls.

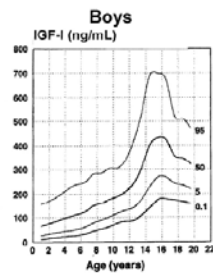


Fig. 5.: Age-dependent reference range of serum IGF-I levels in boys.

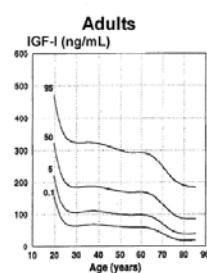


Fig. 6.: Age-dependent reference range of serum IGF-I levels in adults.

(Таблицю 1 та Таблицю 2 див. в оригіналі інструкції англійською мовою).

## 13 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 13.1 Чутливість

Чутливість оцінювали шляхом вимірювання бланка та розрахунку теоретичної концентрації бланка + 2SD. Аналітична чутливість Mediagnost E20 становить 0.091 нг/мл в середньому; в 19 незалежних визначеннях результати становили від 0.03 нг/мл до 0.2 нг/мл.

### 13.2 Специфічність

Було проведено вимірювання в даному аналізі перехресної реактивності з IGF-II, інсуліном та С-пептидом. Ці пов'язані з IGF білки були додані в буфер для аналізу у зазначеній концентрації, і розчин вносили в якості зразка без будь-якого додаткового розведення. Вимірювання концентрації в межах бланка без будь-якого білка становить 0.78 мкг/л. Таким чином, ні IGF-II, ні Інсулін або С-пептид не впливають на проведення аналізу з ELISA Mediagnost E20 (дивись таблицю 3).

Таблиця 3 Специфічність. Перехресна реактивність тест-системи з різними білками, пов'язаних з IGF-I.

added C-Peptide [µg/L]	measured IGF-I [µg/L]	added Insulin [µg/L]	measured IGF-I [µg/L]	added IGF-II [µg/L]	measured IGF-I [µg/L]
500	0.73	100	0.78	1250	0.77
100	0.78	10	0.77	750	0.73
10	0.77	1	0.76	250	0.77
0	0.78	0	0.78	0	0.78

### 13.3 Точність

#### Варіабельність в аналізі

Три зразки були виміряні від шести до 18 разів в тому ж самому аналізі. Отримані результати наведені в таблиці 4. Вимірний коефіцієнт варіації (КВ) становить в середньому 5.81%.

Таблиця 4 Мінливість всередині аналізу

	Number of determinations	Mean value (ng/mL)	Standard deviation (ng/mL)	VC (%)
Sample 1	18	144.8	9.63	6.65
Sample 2	18	140.79	7.15	5.08
Sample 3	18	138.02	7.86	5.69

### Мінливість між аналізами і між лотами

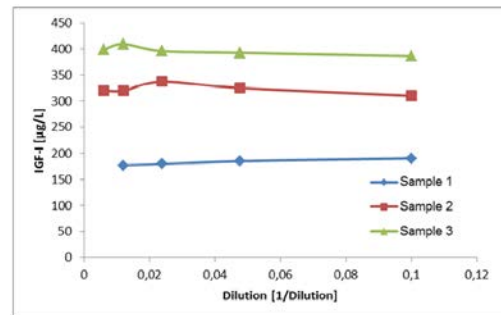
Зразки сироватки були виміряні в незалежних аналізах. Типові результати представлені в таблиці 5. Крім того, п'ять зразків були також випробувані багато разів упродовж чотирьох років в восьми різних партіях. Мінливість в середньому становить 8.57% (6.8-10.5%).

Таблиця 5 Мінливість між аналізами

	Number of determinations	Mean value [ng/mL]	Standard deviation [ng/mL]	VC [%]
Sample 1	8	81	5.34	6.56
Sample 2	16	192	12.38	6.43
Sample 3	17	498	27.52	5.53

### 13.4 Лінійність

Лінійність тестували шляхом розведення нативної сироватки з різним вмістом IGF-I (зразок 1-3). Кількість виміряного IGF-I було перераховано і результати показані на малюнку 7.



Малюнок 7 Лінійність, перераховані концентрації IGF-I диференційно розведених зразків. Мінимальне розведення 1:10, рекомендоване розведення 1:21.

### 13.5 Відновлення та Достовірність

Рекомбінантний IGF-I було додано в різних кількостях в сироватку крові людини. Вміст IGF-I з таких збагачених зразках було визначено і розраховано відновлення в порівнянні з збагаченим буфером. Результати представлені в таблиці 6.

Таблиця 6 Відновлення рекомбінантного IGF-I в сироватці людини

IGF-I [µg/L]	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Sample	138	172	133	180
+ IGF-I 200	287	372	-	-
+ IGF-I 400	-	-	539	591
% Recovery	85	100	101	102

### 13.6 Правдивість/Калібрування аналізу

Рекомбінантний людський IGF-I, який виробляється кишковою паличкою і становить > 98% чистоти (SDS-PAGE, Silverstain) використовують в якості стандарту в аналізі. Простежуваність цього рекомбінантного стандартного матеріалу для міжнародного еталонного матеріалу 02/254 BOO3 було доведено.

Референтний матеріал включає в себе 8.5 мкг/ампулу IGF-I, виміряного за допомогою амінокислотного аналізу і HPLC. Імуноферментний аналіз Mediagnost E20 (аналіз № 14с) вимірює 11.55 мкг/ампулу. Середнє всіх тестованих імуноаналізів становить 11.61 мкг/ампулу.

Таким чином, результати Mediagnost порівнюються з іншими імунологічними тестами для вимірювання IGF-I і можуть бути легко перетворені до BOO3 02/254 коефіцієнтом 0.735.

### 13.7 Інтерференція

Інтерференція білірубину і тригліцеридів була перевірена шляхом додавання різних кількостей цих речовин в сироватку крові людини, що містить IGF-I. Для порівняння таку ж кількість буфера без якої-небудь речовини також було додано в сироватку крові. Таблиця 7 показує, що ні білірубін, ні тригліцериди не мають жодного впливу на вимірювання IGF-I в сироватці крові людини.

**Таблиця 7** Інтерференція фізіологічних речовин на вимірювання IGF-I. Зразки сироватки крові людини були збагачені різними кількостями тригліцеридів, білірубину або гемоглобіну і відновлення IGF-I було виміряне. Тут показано відносне відновлення в [%] не збагачених зразків.

	Triglyceride 100 mg/mL	Bilirubin 200 µg/mL	Hemoglobin 10 mg/ml
Serum 1	93	90	97
Serum 2	100	101	110
Serum 3	120	120	104

Вплив зв'язуючих білків на вимірювання IGF-I був ілюстративно визначений з IGFBP-3.

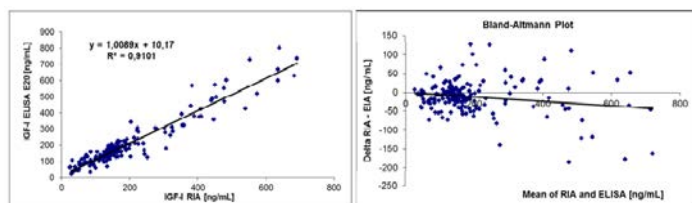
Були додані різні кількості IGF-I і 3 або 6 мг/л IGFBP-3 до буфера зразка (рН 2) і фосфатного буфера на основі фізіологічного розчину (рН 7.4). Після короткої інкубації 15 хвилин при кімнатній температурі ці зразки розводили і вносили з Mediagnost E20, як описано в інструкції. У разі буфера для зразка, IGFBP-3 до 6 мг/л не впливає на вимірювання IGF-I. Але без підкислення зразка сильна інтерференція IGFBP-3 на вимірювання IGF-I була виявлена (таблиця 8).

**Таблиця 8** Інтерференція IGFBP-3 на вимірюванням IGF-I

IGFBP-3	Sample Buffer		
	50 µg/L IGF-I	100 µg/L IGF-I	300 µg/L IGF-I
-	46.38	116.14	358.1
3 mg/L	47.33	115.83	384.15
6 mg/L	52.32	123.38	355.41
IGFBP-3	Phosphate buffered Saline		
	50 µg/L IGF-I	100 µg/L IGF-I	300 µg/L IGF-I
-	34.2	90.23	349.04
3 mg/L	7.4	12.16	152.14
6 mg/L	7.2	10.12	48.15

#### 14 ПОРІВНЯННЯ АНАЛІЗІВ

Mediagnost E20 IGF-I порівнювали з Mediagnost R20 IGF-I. 196 зразків сироватки були виміряні в обох аналізах і відмінний коефіцієнт кореляції був показаний з  $r = 0.95$ . Крім того, Mediagnost IGF-I ELISA E20 порівнювали з ферментним імуноаналізом іншого комерційно доступного тесту IGF-I і була отримана кореляція  $R^2 > 0.9$ .



**Малюнок 8** Порівняння аналізів Mediagnost PIA R20 і Mediagnost ІФА E20



**ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР**

ТОВ «ДІАМЕБ»  
вул. Чорновола, 97  
м. Івано-Франківськ, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)