

Instructions for use / Gebrauchsanweisung**IGF-1 ELISA**

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

IGF-1 ELISA

English

1 INTENDED USE

The **IGF-1 ELISA** is a manual enzyme immunoassay for the quantitative measurement of Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) in human serum.

For *in vitro* diagnostic use. For laboratory professional use.

The device is intended to be used as an aid to diagnosis for individuals where information on one or more of the following is required:

- differential diagnosis of growth disturbances especially in children,
- acromegaly,
- impaired growth,
- dwarfism,
- chronic liver disease & hepatocellular dysfunction.

1.1 Scientific Validity

Clinical Significance

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), also called somatomedin C, is a single-chain 70-amino acid polypeptide, that bears structural similarity to insulin (1, 2). The IGFs (IGF-1 and IGF-2) are growth factors produced in the majority of the organs and body tissues mainly by the regulation of pituitary growth hormone. They have autocrine, paracrine and endocrine actions on metabolism and cell proliferation, growth and differentiation (3 – 5).

Approx. 98% of circulating IGF-1 are bound with high specificity and affinity to a family of 6 IGF binding proteins (IGFBP 1 – 6) that modulate their bioactivity. IGFBP-3 is thought to be the major binding protein of IGF-1, accounting for around 80% of all bound IGF-1, typically forming a tri-molecular complex of 150 kDa with IGF-1 and an acid-labile subunit. Insulin-like growth factor-2 (IGF-2) is a protein closely related to IGF-1 and capable of binding to the IGF-1R as well as its own IGF-2 receptor (IGF-2R). However, whilst the IGF-1R is capable of signal transduction, the IGF-2R is not and binding results in lysosomal degradation of IGF-2. This provides an indirect method of IGF-1 regulation by regulating the level of IGF-2 that is available to bind to the IGF-1R (6 – 7).

Most of the known IGF actions are mediated via IGF type 1 receptor (IGF1R). IGF-1 concentrations change with age, nutritional status, body composition and growth hormone secretion. Vitamin D has been shown to increase circulating IGF-1 and IGFBP-3.

Clinical Applications

A single basal IGF-1 determination is useful in the assessment of short stature in children and in nutritional support studies of acutely ill patients. For the diagnosis of acromegaly, a single IGF-1 determination is considered more reliable than a random GH determination (7)-8.

Patients with cirrhosis are characterized by a variety of metabolic disturbances, including nutritional and metabolic complications such as insulin resistance, malnutrition, osteopenia and hypogonadism, all related to IGF-1 deficiency (9 – 11).

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The IGF-1 ELISA Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), based on the **principle of competitive binding**.

Patient samples, standards and controls are acidified and neutralized prior to the assay procedure.

The microtiter wells are coated with a monoclonal antibody directed towards an antigenic site on the IGF-1 molecule.

During the first incubation, IGF-1 in the added pretreated sample competes with an IGF-1-biotin conjugate (Enzyme Conjugate) for binding to the coated antibody. After incubation, the microtiter plate is washed to stop the competition reaction. In the following incubation the bound biotin molecules are detected with streptavidin peroxidase (Enzyme Complex).

After a second washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The colorimetric reaction is stopped by addition of stop solution, and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured.

The intensity of color is inversely proportional to the concentration of the analyte in the sample.

A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for *in vitro* diagnostic use only. For professional use only.
2. All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
3. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.

4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (21 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
17. Avoid contact with *Stop Solution* containing 0.5 M H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, BND and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from the manufacturer.

4 MATERIALS

4.1 Materials provided

ME E-0519	HCL	0.2 M HCl – ready to use
Volume:	2 x 3 ml; For sample acidification	
Hazards identification:		
	H290 May be corrosive to metals.	
ME E-0587	NEUTR-SOLN	Neutralization Buffer – ready to use
Volume:	1 x 3 ml; For neutralization of samples	
ME E-0531	 96	Microtiterwells
Content:	12x8 (break apart) strips, 96 wells; Wells coated with anti-IGF-1 antibody (monoclonal)	

Standards and Controls – ready to use

Cat. no.	Component	Standard	Concentration	Volume/ Vial
ME E-0501	STANDARD A	Standard A	0 ng/ml	1 ml
ME E-0502	STANDARD B	Standard B	10 ng/ml	1 ml
ME E-0503	STANDARD C	Standard C	50 ng/ml	1 ml
ME E-0504	STANDARD D	Standard D	150 ng/ml	1 ml
ME E-0505	STANDARD E	Standard E	300 ng/ml	1 ml
ME E-0506	STANDARD F	Standard F	600 ng/ml	1 ml
ME E-0551	CONTROL 1	Control 1	For control values and ranges please refer to vial label or QC-Report.	1 ml
ME E-0552	CONTROL 2	Control 2		1 ml

Conversion: 1 ng/ml x 0.13 = nmol/l

Content: The standards are calibrated against the International Reference Reagent for IGF-1, NIBSC code: 02/254.
Contain non-mercury preservative.

ME E-0540 **CONJUGATE** **Enzyme Conjugate** – ready to use

Content: Biotinylated IGF-1.
Contains non-mercury preservative.

Volume: 1 x 14 ml

ME E-0515 **ENZYME** **Enzyme Complex** – ready to use

Content: Streptavidin-HRP Complex.
Contains non-mercury preservative.

Volume: 1 x 20 ml

FR E-0055 **SUBSTRATE** **Substrate Solution** – ready to use

Content: Tetramethylbenzidine (TMB)

Volume: 1 x 14 ml

FR E-0080 **STOP-SOLN** **Stop Solution** – ready to use

Content: Contains 0.5 M H₂SO₄

Volume: 1 x 14 ml

Avoid contact with the Stop Solution. It may cause skin irritations and burns.

FR E-0030 **WASH-CONC 40x** **Wash Solution** – 40x concentrated

Volume: 1 x 30 ml

See „Preparation of Reagents“.

Instructions for Use

Certificate of analysis (CoA)

4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450 nm, with reference wavelength at 620 nm – 630 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Absorbent paper
- Distilled water
- 1.5 ml Reaction Cups (e.g. from Eppendorf) for Sample Preparation (Acidification and Neutralization)
- Timer
- Semi logarithmic graph paper or software for data reduction

4.3 Storage Conditions

When stored at 2 °C to 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date.

Opened reagents must be stored at 2 °C to 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C to 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

Opened kits retain activity for 8 weeks if stored as described above.

4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature prior to use.

Wash Solution

Add distilled water to the 40X concentrated Wash Solution.

Dilute 30 ml of concentrated *Wash Solution* with 1170 ml distilled water to a final volume of 1200 ml.

The diluted Wash Solution is stable for 1 week at room temperature.

4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit must be made according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet.

4.6 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, the manufacturer has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

5 SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Serum can be used in this assay.

NOTE: In plasma significantly reduced values were observed.

Note: Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

In general, it should be avoided to use hemolytic, icteric or lipaemic specimens. For further information refer to chapter "*Interfering Substances*".

5.1 Sample Collection

Serum:

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

5.2 Sample Storage and Preparation

Samples should be capped and may be stored for up to 24 hours at 2 °C to 8 °C prior to assaying.

Samples held for a longer time (up to 14 months) should be frozen only once at -20 °C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

5.3 Specimen Dilution

If in an initial assay, a sample is found to contain more than the highest standard, the samples can be diluted with *Standard A* and re-assayed as described in Assay Procedure.

For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

Example:

a) dilution 1:2: 50 µl serum + 50 µl *Standard A* (mix thoroughly)

b) dilution 1:10: 10 µl serum + 90 µl *Standard A* (mix thoroughly).

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination.
- Absorbance is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.

6.2 Acidification and Neutralization of Patient Samples, Standards and Controls

1.	Pipette 50 µl Sample, Standard and Control in 1.5 ml-reaction caps (e.g. Eppendorf-Caps). Please note: The standards should be acidified and neutralized too, according to the procedure described below.
2.	Add 50 µl 0.2 M HCl .
3.	Mix and incubate for 30 minutes.
4.	For Neutralization add 10 µl Neutralization Buffer to all caps and mix the solution. A pH check and correction of pH <u>is not necessary</u> . <u>Immediately (within 10 minutes)</u> continue with the test procedure in chapter 6.3.

6.3 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

1.	Secure the desired number of Microtiter wells in the frame holder.
2.	Dispense 20 µl of each <u>acidified and neutralized</u> Standard, Control , and samples <u>with new disposable tips</u> into appropriate wells.
3.	Dispense 100 µl Enzyme Conjugate into each well. Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
4.	Incubate for 120 minutes at room temperature.
5.	Briskly shake out the contents of the wells. Rinse the wells 3 times with diluted <i>Wash Solution</i> (400 µl per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets. Important note: The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
6.	Dispense 150 µl Enzyme Complex into each well.
7.	Incubate for 30 minutes at room temperature.
8.	Briskly shake out the contents of the wells. Rinse the wells 3 times with diluted <i>Wash Solution</i> (400 µl per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
9.	Add 100 µl of Substrate Solution to each well.
10.	Incubate for 15 minutes at room temperature.
11.	Stop the enzymatic reaction by adding 100 µl of Stop Solution to each well.
12.	Determine the absorbance (OD) of the solution in each well at 450 nm (reading) and at 620 – 630 nm (background subtraction, recommended) with a microtiter plate reader. It is recommended that the wells be read within 10 minutes after adding the <i>Stop Solution</i> .

6.4 Calculation of Results

1. Calculate the average absorbance values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Using semi-logarithmic graph paper, construct a standard curve by plotting the mean absorbance obtained from each standard against its concentration with absorbance value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the Instructions for Use have been calculated automatically using a 4 Parameter curve fit (4 Parameter Rodbard or 4 Parameter Marquardt are the preferred methods). Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this standard curve. Samples with concentrations higher than that of the highest standard have to be further diluted or reported as > 600 ng/ml. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

6.4.1 Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Standard	Optical Units (450 nm)
Standard A (0 ng/ml)	2.01
Standard B (10 ng/ml)	1.76
Standard C (50 ng/ml)	1.21
Standard D (150 ng/ml)	0.64
Standard E (300 ng/ml)	0.41
Standard F (600 ng/ml)	0.23

7 REFERENCE VALUES

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own reference values.

In a study conducted with apparently normal healthy subjects, using the IGF-1 ELISA the following values are observed:

Age (years)	n	Mean (ng/ml)	2.5 th Percentile (ng/ml)	50 th Percentile (ng/ml)	97.5 th Percentile (ng/ml)	Min. Value (ng/ml)	Max. Value (ng/ml)
Newborn	55	101	65	94	172	65	184
1	10	75	45	77	115	44	119
2	10	91	67	92	120	64	126
3	8	143	103	133	204	103	206
4	11	121	71	119	195	65	208
5	10	165	130	160	232	126	248
6	11	162	80	170	231	62	236
7	10	171	102	169	236	95	242
8	12	200	156	199	249	150	251
9	13	191	61	207	270	44	275
10	11	227	132	237	273	108	278
11	13	227	139	246	308	136	315
12	9	284	174	279	372	158	375
13	3	295	203	265	411	200	419
14	6	269	153	255	416	151	424
15	11	269	119	303	375	111	386
16	9	229	106	228	379	88	407
17	6	251	175	243	349	174	355
18	4	244	186	222	338	184	346
19	5	256	168	246	387	163	402
20	8	317	246	346	363	240	363
21 – 25	23	191	97	175	304	92	304
26 – 30	7	211	137	218	278	133	284
31 – 35	8	184	120	193	229	115	229
36 – 40	5	232	190	220	294	188	300
41 – 45	14	154	107	156	216	105	228
46 – 50	8	150	86	164	196	84	200
51 – 55	17	148	102	140	212	100	214
56 – 60	18	151	96	141	217	91	218
61 – 65	11	130	81	124	216	79	217
66 – 70	10	119	80	117	176	79	183
71 – 75	15	124	57	124	199	46	212
76 – 80	14	122	74	115	192	73	205

The following values were found for suitable subjects differentiated by sex and age:

Females

Age (years)	n	Mean (ng/ml)	Median (ng/ml)	5 th – 95 th Percentile (ng/ml)	1 st – 99 th Percentile (ng/ml)	Range (min. – max.) (ng/ml)
1 – 10	21	194.88	200.69	104.88 – 277.94	83.83 – 326.67	78.57 – 338.85
11 – 20	6	303.63	301.30	217.87 – 392.02	163.34 – 399.63	208.65 – 401.53
21 – 40	38	211.05	209.23	109.34 – 303.44	95.56 – 330.23	91.74 – 345.75
41 – 60	22	161.83	159.31	111.29 – 217.39	106.29 – 225.95	105.03 – 228.12
61 – 80	20	128.96	126.27	78.73 – 212.21	77.66 – 216.35	77.39 – 217.38

Males

Age (years)	n	Mean (ng/ml)	Median (ng/ml)	5 th – 95 th Percentile (ng/ml)	1 st – 99 th Percentile (ng/ml)	Range (min. – max.) (ng/ml)
1 – 10	39	167.22	165.09	54.82 – 293.30	49.31 – 328.30	46.14 – 340.02
11 – 20	4	200.08	198.61	165.88 – 236.34	163.34 – 239.58	162.71 – 240.39
21 – 40	6	136.83	133.57	108.28 – 167.08	95.84 – 171.41	101.28 – 172.50
41 – 60	36	148.08	140.25	97.25 – 214.16	88.02 – 273.90	83.77 – 305.37
61 – 80	30	120.85	116.52	74.64 – 191.55	53.59 – 210.48	45.62 – 212.77

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results should be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

8 QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls be run with each standard curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day-to-day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Employ appropriate statistical methods for analyzing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above-mentioned items without finding any error contact your distributor or the manufacturer directly.

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)

The following substances were tested for cross reactivity of the assay:

Substance	Conc. Range of Spiked Substance ng/ml	Mean Cross-Reactivity %
IGF-1	–	100.0
Insulin	0.0043 – 4.33	3.3
IGF-2	300.00 – 1200.00	1.0

9.2 Detection Capability

Limit of Blank (LoB)	0.808 ng/ml
Limit of Detection (LoD)	4.081 ng/ml
Limit of Quantification (LoQ)	10.264 ng/ml
Measuring range	4.081 ng/ml – 600.0 ng/ml
Linear range	8.847 ng/ml – 600.0 ng/ml

9.3 Repeatability and Reproducibility

9.3.1 Repeatability (within-run precision)

The repeatability is shown below:

Sample	n	Mean (ng/ml)	CV (%)
1	20	89.34	7.4
2	20	227.39	6.9
3	20	390.82	6.4

9.3.2 Reproducibility (between-run precision)

The reproducibility (between-run) is shown below:

Sample	n	Mean (ng/ml)	CV (%)
1	40	14.50	14.8
2	40	66.26	10.3
3	40	125.30	12.6

9.4 Reproducibility (between-lot precision)

The reproducibility (between-lot) is shown below:

Sample	Mean Conc. (ng/ml) Lot 1	Mean Conc. (ng/ml) Lot 2	Mean Conc. (ng/ml) Lot 3	Mean Conc. (ng/ml)	Between- Lot CV (%)	n
1 (Serum)	74.93	78.98	80.14	78.02	3.5	18
2 (Serum)	94.83	90.82	91.12	92.26	2.4	18
3 (Serum)	115.87	118.94	119.14	117.98	1.6	18
4 (Serum)	155.78	163.93	138.83	152.85	8.4	18

9.5 Spiked Recovery

Samples have been spiked by adding IGF-1 solutions with known concentrations in a 1:1 ratio. The % recovery has been calculated by multiplication of the ratio of the measurements and the expected values with 100 (expected value = (endogenous IGF-1 + added IGF-1) / 2; because of a 1:2 dilution of serum with spike material).

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Concentration (ng/ml)	91.60	158.08	170.47	190.48
Average Recovery (%)	103.5	102.0	95.8	95.9
Range of Recovery (%)	from	96.8	96.6	86.1
	to	106.6	106.0	114.9

9.6 Linearity of Dilution

		Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6
Concentration (ng/ml)		141.55	199.55	201.36	250.29	301.28	576.6
Average Recovery (%)		94.4	94.3	97.7	95.1	97.4	108.2
Range of Recovery (%)	from	88.2	85.4	87.5	89.8	91.4	91.6
	to	101.3	107.3	112.7	101.8	105.6	108.2

10 LIMITATIONS OF USE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice. Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

10.1 Interfering Substances

In general, hemolytic, icteric or lipemic samples should be avoided.

Unconjugated bilirubin (up to 0.3 mg/ml), conjugated bilirubin (up to 0.1 mg/ml), Hemoglobin (up to 4 mg/ml), triglyceride (up to 7.5 mg/ml), cholesterol (up to 4 mg/ml), ethanol (up to 4 mg/ml) and glucose (up to 12.5 mg/ml) have no influence on the assay results.

10.2 Biotin Interference

Biotin interference is not detected up to a concentration of 1200 ng/ml for this assay.

10.3 Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence on the measurement of IGF-1 600 in a sample.

10.4 High-Dose-Hook Effect

A high dose Hook effect was not detected for this test.

11 LEGAL ASPECTS

11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover, the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact the manufacturer.

11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

11.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

12 REFERENCES / LITERATURE

1. Baxter RC, Martin JL, Beniac VA: High molecular weight insulin-like growth factor binding protein complex. J Biol Chem. 1989, 264:11843-11848.
2. Rechler M: Insulin-like growth factor binding proteins. Vit Horm 47:1-114, 1993.
3. Lewitt MS, Denyer GS, Cooney GJ, Baxter RC: Insulin-like growth factor-binding protein-1 modulates blood glucose levels. Endocrinol. 1991, 129:2254-2256.
4. Lewitt MS, Saunders H, Baxter RC: Bioavailability of insulin-like growth factors (IGFs) in rats determined by the molecular distribution of human IGF-binding protein-3. Endocrinol. 1993, 133:1797-1802.
5. Lieberman SA et al.: Effects of recombinant human insulin-like growth factor-I (rhIGF-1) on total and free IGF-1 concentrations, IGF-binding proteins, and glycemic response in humans. J Clin Endocrinol Metab. 1992, 75:30-36.
6. Smith TJ. Insulin-Like Growth Factor Pathway and the Thyroid Front Endocrinol (Lausanne). 2021, 4:12:653627 2021.
7. Julian Bailes J and Soloviev M. Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) and Its Monitoring in Medical Diagnostic and in Sports. Biomolecules. 2021, 11(2): 217.
8. Fleseriu M et al. A Pituitary Society update to acromegaly management guidelines. Pituitary. 2021, 24:1-13
9. Adamek A and Kasprzak A. Insulin-Like Growth Factor (IGF) System in Liver Diseases. Int J Mol Sci. 2018, 19(5): 1308.
10. Bonefeld K, Møller S: Insulin-like growth factor-I and the liver. Liver Int. 2011, 31(7):911-9.
11. Ameri P et al.: Interactions between vitamin D and IGF-I: from physiology to clinical practice. Clin Endocrinol (Oxf). 2013, 79(4):457-63.
12. Brabant G et al.: German KIMS Board. Serum insulin-like growth factor I reference values for an automated chemiluminescence immunoassay system: results from a multicenter study. Horm Res. 2003, 60(2):53-60.
13. Elmlinger MW et al.: Reference ranges for two automated chemiluminescent assays for serum insulin-like growth factor I (IGF-1) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3). Clin Chem Lab Med. 2004, 42(6):654-64.
14. Bidlingmaier M et al.: Reference Intervals for Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-I) From birth to senescence: results from a multicenter study using a new automated chemiluminescence IGF-I immunoassay conforming to recent international recommendations. J Clin Endocrinol Metab. 2014, 99(5):1712-1721.

Symbols:

	Storage temperature		Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Use-by date		Batch code		For in-vitro diagnostic use only!
	Consult instructions for use		Content		CE marking of conformity
	Caution		Catalogue number		Distributor
	Date of manufacture				

1 ZWECKBESTIMMUNG

Der **IGF-1 ELISA** ist ein manueller Enzymimmunoassay zur quantitativen Messung von IGF-1 in humanem Serum.

Für den Einsatz in der In-vitro Diagnostik. Für den beruflichen Gebrauch in Laboratorien.

Das Produkt ist als Diagnosehilfe bei Personen gedacht, für die Informationen zu einem oder mehreren der folgenden Punkte erforderlich sind:

- Differentialdiagnose von Wachstumsstörungen, insbesondere bei Kindern,
- Akromegalie,
- gestörtes Wachstum,
- Kleinwuchs,
- chronische Lebererkrankung und hepatozelluläre Dysfunktion.

2 TESTPRINZIP

Der IGF-1 ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf dem **Prinzip der kompetitiven Bindung** basiert.

Patientenproben, Standards und Kontrollen müssen vor der Testdurchführung angesäuert und neutralisiert werden.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem Antikörper beschichtet, der gegen eine Antikörper-Bindungsstelle des IGF-1-Moleküls gerichtet ist.

Während der ersten Inkubation konkurriert IGF-1 in der zugegebenen, vorbehandelten Probe mit einem IGF-1-Biotin-Konjugat (*Enzyme Conjugate*) um die Bindung an den beschichteten Antikörper. Nach der Inkubation wird die Mikrotiterplatte gewaschen, um die Konkurrenzreaktion zu beenden. In der folgenden Inkubation werden die gebundenen Biotinmoleküle mit Streptavidin-Peroxidase (*Enzyme Complex*) nachgewiesen.

Nach einem zweiten Waschschrift, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen, wird die feste Phase mit der Substratlösung inkubiert. Die Farbreaktion wird durch die Zugabe der Stopplösung beendet und die optische Dichte (OD) des resultierenden gelben Produktes gemessen. Die Intensität der Farbe ist umgekehrt proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe.

Durch Auftragen der OD-Werte gegen die Konzentrationen der Standards wird eine Standardkurve erstellt, und die Konzentrationen der unbekannten Proben werden anhand dieser Standardkurve bestimmt.

3 VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet.
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.
- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Jedoch sollten alle Bestandteile im Umgang und bei der Entsorgung wie mögliche Gefahrenstoffe betrachtet werden.
- Der Kontakt mit der *Stop Solution* sollte vermieden werden, da sie 0,5 M H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß den Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt vom Hersteller erhältlich.

4 MATERIALIEN

4.1 Im Kit mitgelieferte Materialien

ME E-0519 **HCL** **0,2 M HCl** – gebrauchsfertig
 Volumen: 2 x 3 ml;
 Für die Probenansäuerung

Mögliche
 Gefahren:



H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

ME E-0587 **NEUTR-SOLN** **Neutralization Buffer** (Neutralisierungspuffer) – gebrauchsfertig
 Volumen: 1 x 3 ml;
 Für die Neutralisation der Proben

ME E-0531 **96** **Microtiterwells**
 Inhalt: 96 Wells, 12x8 Wells (einzeln brechbar);
 Mit anti-IGF-1-Antikörper (monoklonal) beschichtet

Standards und Kontrollen – gebrauchsfertig

Artikelnr.	Komponente	Standard	Konzentration	Volumen/ Fläschchen
ME E-0501	STANDARD A	Standard A	0 ng/ml	1 ml
ME E-0502	STANDARD B	Standard B	10 ng/ml	1 ml
ME E-0503	STANDARD C	Standard C	50 ng/ml	1 ml
ME E-0504	STANDARD D	Standard D	150 ng/ml	1 ml
ME E-0505	STANDARD E	Standard E	300 ng/ml	1 ml
ME E-0506	STANDARD F	Standard F	600 ng/ml	1 ml
ME E-0551	CONTROL 1	Kontrolle 1	Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem QC-Report.	1 ml
ME E-0552	CONTROL 2	Kontrolle 2		1 ml

Umrechnungs-
 faktor: 1 ng/ml x 0,13 = nmol/l

Inhalt: Die Standards sind kalibriert gegen das Internationale Referenzreagenz für IGF-1, NIBSC code: 02/254.
 Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

ME E-0540 **CONJUGATE** **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat) – gebrauchsfertig

Inhalt: Biotinyliertes IGF-1;
 Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

Volumen: 1 x 14 ml

ME E-0515 **ENZYME** **Enzyme Complex** (Enzymkomplex) – gebrauchsfertig

Inhalt: Streptavidin-HRP-Komplex.
 Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

Volumen: 1 x 20 ml

FR E-0055 **SUBSTRATE** **Substrate Solution** (Substratlösung) – gebrauchsfertig

Inhalt: Substratlösung TMB

Volumen: 1 x 14 ml

FR E-0080 **STOP-SOLN** **Stop Solution** (Stopplösung) – gebrauchsfertig

Inhalt: Enthält 0,5 M H₂SO₄

Volumen: 1 x 14 ml

Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.

FR E-0030

WASH-CONC 40x

Wash Solution (Waschlösung) – 40x konzentriert

Volumen: 1 x 30 ml

Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

Gebrauchsanweisung

Analysenzertifikat (CoA)

Anmerkung: Zusätzlicher *Standard A* zur Probenverdünnung ist auf Anfrage erhältlich.

4.2 Erforderliche, aber nicht enthaltene Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät (450 nm, mit Referenzwellenlänge bei 620 nm – 630 nm)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser
- 1,5 ml-Reaktionsgefäße (z.B. von Eppendorf) zur Vorbereitung der Proben (Ansäuerung und Neutralisation)
- Laborwecker
- Millimeterpapier oder Software zur Datenauswertung

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 8 Wochen ihre Reaktivität.

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.

Wash Solution

Die 40-fach konzentrierte *Wash Solution* (30 ml) mit 1170 ml destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1200 ml verdünnen.

Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur für 1 Woche stabil.

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, Kapitel 13.

4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss der Hersteller in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten sollten nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen gelagert werden, bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

5 PROBENVORBEREITUNG

Serum kann in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.

ACHTUNG: In Plasma wurden deutlich erniedrigte Werte beobachtet.

Achtung: Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

Generell sollte die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben vermieden werden. Weitere Informationen finden Sie im Kapitel „Interferenzen“.

5.1 Probenentnahme

Serum: Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein und können vor Testbeginn bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Für eine längere Aufbewahrung (bis zu 14 Monate) sollten die Proben eingefroren bei -20 °C bis zum Testbeginn gelagert werden. Nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben sollten vor Testbeginn vorsichtig durchmischt werden, ohne Schaumbildung.

5.3 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit *Standard A* weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

Beispiel:

- a) Verdünnung 1:2: 50 µl Serum + 50 µl *Standard A* (gründlich mischen)
- b) Verdünnung 1:10: 10 µl Serum + 90 µl *Standard A* (gründlich mischen)

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.

6.2 Ansäuerung und Neutralisation von Patientenproben, Standards und Kontrollen

1. 50 µl Probe bzw. Standard und Kontrolle in 1,5 ml-Reaktionsgefäße (z.B. Eppendorf-Caps) geben. Bitte beachten: Auch Standards und Kontrollen müssen nach dieser Vorschrift behandelt werden.
2. 50 µl 0,2 N HCl hinzugeben.
3. Mischen und 30 Minuten stehen lassen.
4. Zur Neutralisierung 10 µl Neutralization Buffer hinzufügen; gut mischen. Eine pH-Wert-Überprüfung und -Korrektur <u>ist nicht erforderlich</u> . Bitte <u>sofort (innerhalb von 10 Minuten)</u> mit der Testdurchführung (siehe Kap. 6.3) fortfahren.

6.3 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1.	Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2.	Je 20 µl vorbehandelte Standards, Kontrollen und Proben mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Wells geben.
3.	100 µl Enzyme Conjugate in jedes Well geben. Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
4.	120 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
5.	Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells 3-mal mit verdünnter Waschlösung (400 µl) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen. Achtung: Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrilles!
6.	150 µl Enzyme Complex in jedes Well geben.
7.	30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
8.	Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells 3-mal mit verdünnter Waschlösung (400 µl) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
9.	100 µl Substrate Solution in jedes Well geben.
10.	15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
11.	Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stop Solution in jedes Well abstoppen.
12.	Die Optische Dichte (OD) bei 450 nm (Messung) und 620 – 630 nm (Abzug des Hintergrundes, empfohlen) mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von 10 Minuten nach Zugabe der Stopplösung bestimmen.

6.4 Ergebnisermittlung

- Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Kontrollen und Patientenproben bestimmen.
- Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren Optischen Dichte jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird.
- Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
- Automatische Methode: Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter-Gleichung bestimmt. (4 Parameter Rodbard oder 4 Parameter Marquardt sind die bevorzugten Methoden.)
Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
- Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

6.4.1 Beispiel für eine Standardkurve

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem ELISA gezeigt. Diese Werte sollten **nicht** zur Berechnung von Patientendaten verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450 nm)
Standard A (0 ng/ml)	2,01
Standard B (10 ng/ml)	1,76
Standard C (50 ng/ml)	1,21
Standard D (150 ng/ml)	0,64
Standard E (300 ng/ml)	0,41
Standard F (600 ng/ml)	0,23

7 REFERENZWERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwerte ermittelt.
In einer Studie mit offensichtlich gesunden Individuen wurden mit dem IGF-1 ELISA folgende Werte ermittelt:

Alter (Jahre)	n	Mittelwert (ng/ml)	2,5. Perzentil (ng/ml)	50. Perzentil (ng/ml)	97,5. Perzentil (ng/ml)	Minimum (ng/ml)	Maximum (ng/ml)
Neugeborene	55	101	65	94	172	65	184
1	10	75	45	77	115	44	119
2	10	91	67	92	120	64	126
3	8	143	103	133	204	103	206
4	11	121	71	119	195	65	208
5	10	165	130	160	232	126	248
6	11	162	80	170	231	62	236
7	10	171	102	169	236	95	242
8	12	200	156	199	249	150	251
9	13	191	61	207	270	44	275
10	11	227	132	237	273	108	278
11	13	227	139	246	308	136	315
12	9	284	174	279	372	158	375
13	3	295	203	265	411	200	419
14	6	269	153	255	416	151	424
15	11	269	119	303	375	111	386
16	9	229	106	228	379	88	407
17	6	251	175	243	349	174	355
18	4	244	186	222	338	184	346
19	5	256	168	246	387	163	402
20	3	317	246	346	363	240	363
21 – 25	23	191	97	175	304	92	304
26 – 30	7	211	137	218	278	133	284
31 – 35	8	184	120	193	229	115	229
36 – 40	5	232	190	220	294	188	300
41 – 45	14	154	107	156	216	105	228
46 – 50	8	150	86	164	196	84	200
51 – 55	17	148	102	140	212	100	214
56 – 60	18	151	96	141	217	91	218
61 – 65	11	130	81	124	216	79	217
66 – 70	10	119	80	117	176	79	183
71 – 75	15	124	57	124	199	46	212
76 – 80	14	122	74	115	192	73	205

Für Probanden, differenziert nach Geschlecht und Alter, wurden die folgenden Werte ermittelt:

Frauen

Alter (Jahre)	n	Mittelwert (ng/ml)	Median (ng/ml)	5. – 95. Perzentile (ng/ml)	1. – 99. Perzentile (ng/ml)	Bereich (min. – max.) (ng/ml)
1 – 10	21	194,88	200,69	104,88 – 277,94	83,83 – 326,67	78,57 – 338,85
11 – 20	6	303,63	301,30	217,87 – 392,02	163,34 – 399,63	208,65 – 401,53
21 – 40	38	211,05	209,23	109,34 – 303,44	95,56 – 330,23	91,74 – 345,75
41 – 60	22	161,83	159,31	111,29 – 217,39	106,29 – 225,95	105,03 – 228,12
61 – 80	20	128,96	126,27	78,73 – 212,21	77,66 – 216,35	77,39 – 217,38

Männer

Alter (Jahre)	n	Mittelwert (ng/ml)	Median (ng/ml)	5. – 95. Perzentile (ng/ml)	1. – 99. Perzentile (ng/ml)	Bereich (min. – max.) (ng/ml)
1 – 10	39	167,22	165,09	54,82 – 293,30	49,31 – 328,30	46,14 – 340,02
11 – 20	4	200,08	198,61	165,88 – 236,34	163,34 – 239,58	162,71 – 240,39
21 – 40	6	136,83	133,57	108,28 – 167,08	95,84 – 171,41	101,28 – 172,50
41 – 60	36	148,08	140,25	97,25 – 214,16	88,02 – 273,90	83,77 – 305,37
61 – 80	30	120,85	116,52	74,64 – 191,55	53,59 – 210,48	45,62 – 212,77

Die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse sollten niemals als alleinige Grundlage für therapeutische Konsequenzen dienen. Die Ergebnisse müssen zusammen mit anderen klinischen Befunden und diagnostischen Tests des Patienten interpretiert werden.

8 QUALITÄTSKONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im QC-Zertifikat, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Es wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungs-Programmen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit dem Hersteller in Verbindung.

9 LEISTUNGSMERKMALE

9.1 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die Daten entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Gebrauchsanweisung.

9.2 Detektionsfähigkeit

Limit of Blank (LoB)	0,808 ng/ml
Nachweisgrenze (LoD)	4,081 ng/ml
Quantifizierungsgrenze (LoQ)	10,264 ng/ml
Messbereich	4,081 ng/ml – 600,0 ng/ml
Linearer Bereich	8,847 ng/ml – 600,0 ng/ml

Die Daten zu:

9.3 Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

9.4 Wiederfindung

9.5 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Gebrauchsanweisung.

10 GRENZEN DES TESTS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Anweisungen in der Gebrauchsanleitung und unter Befolgung der GLP (Good Laboratory Practice)-Richtlinien durchgeführt wird.

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikationen dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

10.1 Interferenzen

Generell sollte die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben vermieden werden. Weitere Informationen finden Sie im Kapitel „Interferenzen“.

Unkonjugiertes Bilirubin (bis zu 0,3 mg/ml), konjugiertes Bilirubin (bis zu 0,1 mg/ml), Hämoglobin (bis zu 4 mg/ml), Triglyceride (bis zu 30 mg/ml), Cholesterol (bis zu 4,0 mg/ml), Ethanol (bis zu 4,0 mg/ml) und Glukose (bis zu 12,5 mg/ml) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

10.2 Biotin Interferenz

Eine Biotin-Interferenz wird bei diesem Test bis zu einer Konzentration von 1200 ng/ml nicht nachgewiesen.

10.3 Beeinflussung durch Medikamente

Uns sind bislang keine Stoffe (Medikamente) bekannt geworden, deren Einnahme die Messung des IGF-1-Gehaltes der Probe beeinflussen würde.

10.4 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test nicht auf.

11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit dem Hersteller in Verbindung.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1 genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.

Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2 erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

12 REFERENZEN / LITERATUR

1. Baxter RC, Martin JL, Beniac VA: High molecular weight insulin-like growth factor binding protein complex. J Biol Chem. 1989, 264:11843-11848.
2. Rechler M: Insulin-like growth factor binding proteins. Vit Horm 47:1-114, 1993.
3. Lewitt MS, Denyer GS, Cooney GJ, Baxter RC: Insulin-like growth factor-binding protein-1 modulates blood glucose levels. Endocrinol. 1991, 129:2254-2256.
4. Lewitt MS, Saunders H, Baxter RC: Bioavailability of insulin-like growth factors (IGFs) in rats determined by the molecular distribution of human IGF-binding protein-3. Endocrinol. 1993, 133:1797-1802.
5. Lieberman SA et al.: Effects of recombinant human insulin-like growth factor-I (rhIGF-1) on total and free IGF-1 concentrations, IGF-binding proteins, and glycemic response in humans. J Clin Endocrinol Metab. 1992, 75:30-36.
6. Smith TJ. Insulin-Like Growth Factor Pathway and the Thyroid Front Endocrinol (Lausanne). 2021, 4:12:653627 2021.
7. Julian Bailes J and Soloviev M. Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) and Its Monitoring in Medical Diagnostic and in Sports. Biomolecules. 2021, 11(2): 217.
8. Fleseriu M et al. A Pituitary Society update to acromegaly management guidelines. Pituitary. 2021, 24:1-13
9. Adamek A and Kasprzak A. Insulin-Like Growth Factor (IGF) System in Liver Diseases. Int J Mol Sci. 2018, 19(5): 1308.
10. Bonefeld K, Møller S: Insulin-like growth factor-I and the liver. Liver Int. 2011, 31(7):911-9.
11. Ameri P et al.: Interactions between vitamin D and IGF-I: from physiology to clinical practice. Clin Endocrinol (Oxf). 2013, 79(4):457-63.
12. Brabant G et al.: German KIMS Board. Serum insulin-like growth factor I reference values for an automated chemiluminescence immunoassay system: results from a multicenter study. Horm Res. 2003, 60(2):53-60.
13. Elmlinger MW et al.: Reference ranges for two automated chemiluminescent assays for serum insulin-like growth factor I (IGF-1) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3). Clin Chem Lab Med. 2004, 42(6):654-64.
14. Bidlingmaier M et al.: Reference Intervals for Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-I) From birth to senescence: results from a multicenter study using a new automated chemiluminescence IGF-I immunoassay conforming to recent international recommendations. J Clin Endocrinol Metab. 2014, 99(5):1712-1721.

Symbole:

	Lagertemperatur		Hersteller		Enthält Testmaterial für <n> Teste
	Verwendbar bis		Chargennummer		In vitro Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten		Inhalt		CE-Kennzeichnung
	Achtung		Katalognummer		Vertriebspartner
	Herstellungsdatum				