



IGF-1-EASIA

KAP1581

Read entire protocol before use.

IGF1-EASIA

I. INTENDED USE

Immunoenzymetric assay for the *in vitro* quantitative measurement of human Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) in serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. **Proprietary name :** DIAsource IGF1-EASIA Kit
- B. **Catalogue number :** KAP1581 : 96 tests
- C. **Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Biological activities

Insulin-like growth factor I (IGF-I) or Somatomedin-C (SM-C) is a basic 70 amino acid single chain polypeptide (MW : 7649 Da) similar to proinsulin (50% sequence homology), and to the other well-characterized member of the somatomedin family : IGF II (67AA, 70 % sequence homology with IGF-I). IGF-I is the most important factor, which mediates the growth promoting actions of growth hormone, a pituitary hormone with highly fluctuating blood levels due to pulsatile release. The blood concentration of IGF-I is more stable due to the binding to carrier proteins. The concentration of the predominant binding protein (MW 53000) as well as the production of IGF-I, are regulated by growth hormone. IGF-I is produced by the liver, and other tissues, and it has endocrine, paracrine and autocrine activities. It stimulates growth and regulates differentiation of various tissues, displays insulin-like activities and promotes cartilage growth. Although GH is the most important factor controlling IGF-I secretion and concentration, other factors are also determinant: the age (with a peak at adolescence), the sex, the nutritional status, and other hormones (oestrogen, thyroxine, prolactin, ...). Specific trophic stimuli mainly control IGF-I secretion in the local microenvironment of a particular organ (paracrine activities), while blood IGF-I concentration is the most important variable for balanced systemic growth (endocrine activities).

B. Clinical applications

· **Growth retardation:** Growth retardation may be due to several causes, among which deficient GH production (hypopituitarism), which is associated with low IGF-I blood levels. Because of the difficulties to get interpretable results from GH measurements (by dynamic multiple or stimulation tests), the determination of the stable IGF-I concentration in plasma is often considered as a simple screening test to evaluate "GH impregnation" of the patient before deciding more extensive investigations. In several clinical situations with impaired growth, low IGF-I levels may be observed despite normal or high GH production (i.e. malnutrition, chronic diseases states, some genetic dwarfs like Pygmies, ...). Interestingly, children with discrete GH neuro-secretory dysfunction may display low IGF-I values despite normal GH levels by conventional testing. The results of IGF-I assay must be interpreted cautiously by considering the normal variations of IGF-I during childhood and adolescence (see Rosenfeld et al).

· **Acromegaly:** IGF-I levels are elevated in acromegaly (excess production of GH) and may serve as an indicator of disease severity. Results are more readily interpreted because the normal values are more easily defined in adults. IGF-I measurements are also useful to monitor treatment.

· **Research:** The IGF-I EASIA kit is an invaluable tool to study the modifications of this growth factor during physiologic (i.e. pregnancy) or pathologic (i.e. diabetes) situations, and the local regulation of IGF-I production in relation to its paracrine and autocrine activities (wound healing, organ regeneration, neoplastic growth, foetal development, gonadal regulation, etc).

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIAsource IGF1-EASIA is a solid phase Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay performed on breakable microtiterplates. In the present kit, DIAsource has introduced a pre-treatment step in order to improve the clinical performance of the assay. It is well established that the binding proteins interfere with the EASIA assay for IGF1. The pre-treatment step used by DIAsource is the acid-ethanol procedure of Daughaday et al.(8) A fixed amount of IGF1-labelled with horseradish peroxidase (HRP), compete with unlabelled IGF1 present in the calibrators ,controls and samples for a limited number of binding sites on a specific antibody. After 1 hour incubation at room temperature, the microtiterplate is washed to stop the competition reaction. . The Chromogenic solution (TMB) is added and incubated for 30 min. The reaction is stopped with the addition of Stop Solution and the microtiterplate is then read at the appropriate wavelength. The amount of substrate turnover is determined colourimetrically by measuring the absorbance, which is inversely proportional to the IGF1 concentration. A calibration curve is plotted and IGF1 concentration in samples is determined by interpolation from the calibration curve.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 tests Kit	Color Code	Reconstitution			
 Microtiterplate with 96 anti IGF1 coated breakable wells	96 wells	blue	Ready for use			
<table><tr><td>Ag</td><td>HRP</td><td>CONC</td></tr></table> Conjugate: HRP labelled IGF1 in phosphate buffer with caseine and thymol	Ag	HRP	CONC	1 vial 0.2 ml	red	Dilute 100 x with conjugate buffer
Ag	HRP	CONC				
<table><tr><td>CONJ</td><td>BUF</td></tr></table> Conjugate buffer: Phosphate buffer with caseine and thymol	CONJ	BUF	1 vial 11,5 ml	red	Ready for use	
CONJ	BUF					
<table><tr><td>PRE</td><td>SOLN</td></tr></table> Pre-treatment Solution containing ethanol	PRE	SOLN	1 vial 20 ml	black	Ready for use	
PRE	SOLN					
<table><tr><td>REC</td><td>SOLN</td></tr></table> Reconstitution Solution containing ethanol	REC	SOLN	1 vial 10 ml	blue	Ready for use	
REC	SOLN					
<table><tr><td>NEUTR</td><td>SOLN</td></tr></table> Neutralization Solution containing phosphate buffer with bovine casein and azide (<0.1%)	NEUTR	SOLN	1 vial 30 ml	green	Ready for use	
NEUTR	SOLN					
<table><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Zero calibrator in phosphate buffer with bovine casein	CAL	0	1 vial lyophilized	yellow	Add 1.0 ml reconstitution solution	
CAL	0					
<table><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrators - N = 1 to 5 (see exact values on vial labels) in phosphate buffer with bovine casein .	CAL	N	5 vials lyophilized	yellow	Add 1.0 ml reconstitution solution	
CAL	N					
<table><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controls - N = 1 or 2 in human serum with thymol	CONTROL	N	2 vials lyophilized	silver	Add 0.5 ml distilled water	
CONTROL	N					
<table><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wash Solution (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	brown	Dilute 200 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC				
<table><tr><td>CHROM</td><td>TMB</td></tr></table> Chromogenic TMB Solution (Tetramethylbenzidine)	CHROM	TMB	1 vial 12 ml	brown	Ready for use	
CHROM	TMB					
<table><tr><td>STOP</td><td>SOLN</td></tr></table> Stop solution: HCl 1.0 N	STOP	SOLN	1 vial 12 ml	white	Ready for use	
STOP	SOLN					

Note: 1. Use the zero calibrator for sample dilutions.
2. 1 ng of the calibrator preparation is equivalent to 1 ng of the NIBSC 1st IRR 87/518.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

- The following material is required but not provided in the kit:
1. High quality distilled water
 2. Pipettes for delivery of: 50 µl, 100 µl, 400 µl, 500 µl, 600 µl and 1 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
 3. Optional: microcentrifuge tubes in polypropylene for pre-treatment of samples (for example:Eppendorf 3810)
 4. Polypropylene tubes for neutralization step (for example:Falcon 352063)
 5. Vortex mixer
 6. Magnetic stirrer
 7. Microcentrifuge or Centrifuge
 8. Washer for microtiterplates
 9. Microtiterplate reader capable of reading at 450 nm and 650 nm (monochromatic reading)

VII. REAGENT PREPARATION

- A. Calibrators:** Reconstitute the zero calibrator and other calibrators with 1.0ml reconstitution solution.
B. Controls : Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
C Working IGF1-HRP conjugate : Prepare an adequate volume of conjugate solution by adding for example :20 µl of the 100 x concentrated IGF1-HRP conjugate to 2 ml of conjugate buffer. Use a vortex to homogenize. Extemporaneous preparation is recommended.
D. Working Wash solution : Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 199 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (200x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- § Before opening or reconstitution, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the vial label, if kept at 2 to 8°C.
§ Unused strips must be stored, at 2-8°C, in a sealed bag containing a desiccant until expiration date.
§ After reconstitution, calibrators and controls are stable for one week at 2 to 8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximum 3 months. Avoid successive freezing and thawing
§ The concentrated Wash Solution is stable at room temperature until expiration date.
§ Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day..
§ The Working IGF1-HRP conjugate is stable for 4 hours at room temperature, avoid direct sunlight.
§ Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- § Serum must be kept at 2 - 8°C.
§ If the test is not run within 24 hours, storage in aliquots at -20°C is recommended. Avoid subsequent freeze thaw cycles.
§ Prior to use, all samples should be at room temperature. It is recommended to vortex the samples before use.
§ Do not use haemolysed samples.

X. PROCEDURE

- A. Handling notes**
Do not use the kit or components beyond expiry date.
Do not mix materials from different kit lots.
Bring all the reagents to room temperature prior to use.
Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling.
Perform calibrators, controls and samples in duplicate. Vertical alignment is recommended.
Use a clean plastic container to prepare the Wash Solution.
In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample.
For the dispensing of the Chromogenic Solution and the Stop Solution avoid pipettes with metal parts.
High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.
Respect the incubation times.
To avoid drift, the time between pipetting of the first calibrator and the last sample must be limited to the time mentioned in section XIII paragraph E (Time delay).
Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.
Dispense the Chromogenic Solution within 15 minutes following the washing of the microtiterplate.
During incubation with Chromogenic Solution, avoid direct sunlight on the microtiterplate.

B.1. Pre-treatment step for microfuge tubes
! Do not extract calibrators

- 1. Label one microcentrifuge tube(for extraction) and one polypropylene tube (for neutralization) for each sample and control.
- 2. Dispense 100 µl of each sample and control into microfuge tube.
- 3. Add 400 µl of pre-treatment solution into this tube.
- 4. Close the tubes ,vortex and incubate 30 minutes at room temperature.
- 5. Centrifuge for 2 minutes at 10000 rpm.
- 6. Take 100 µl of the supernatant and transfer it into the polypropylene labelled tube.
- 7. Add 600 µl of the neutralisation solution to this tube.
- 8. Vortex each tube.

B.2. Pre-treatment step for other polypropylene tubes
! Do not extract calibrators

- 1. Label two polypropylene tubes(one fro extraction and the other for neutralization) for each sample and control.
- 2. Dispense 100 µl of each sample and control into extraction tube.
- 3. Add 400 µl of pre-treatment solution into this tube.
- 4. Close the tubes ,vortex and incubate 30 minutes at room temperature.
- 5. Centrifuge for 15 minutes at > or = 3000 rpm.
- 6. Take 100 µl of the supernatant and transfer it into the polypropylene labelled tube.
- 7. Add 600 µl of the neutralisation solution to this tube.
- 8. Vortex each tube.

C. Procedure

- 1. Select the required number of wells for the run. The unused wells should be resealed in the bag with a desiccant and stored at 2-8°C.
- 2. Secure the wells into the holding frame.
- 3. Pipette 50 µl of each Calibrator, extracted control and extracted sample into the appropriate wells.
- 4. Pipette 100 µl of IGF1-HRP conjugate solution into all the wells.
- 5. Incubate for 1 hour at room temperature .
- 6. Aspirate the liquid from each well.
- 7. Wash the plate 3 times by:
§ dispensing 0.4 ml of Wash Solution into each well
§ aspirating the content of each well
- 8. Pipette 100 µl of the Chromogenic solution into each well within 15 minutes following the washing step.
- 9. Incubate the microtiterplate for 30 minutes at room temperature, avoid direct sunlight
- 10. Pipette 100 µl of Stop Solution into each well.
- 11. Read the absorbences at 450 nm (reference filter 630 nm or 650 nm) within 1 hour and calculate the results as described in section XI

XI. CALCULATION OF RESULTS

- 1. Read the plate at 450 nm against a reference filter set at 650 nm (or 630 nm).
- 2. Calculate the mean of duplicate determinations.
- 3. Calculate for each calibrator, control and sample:

$$B/B0(\%) = \frac{OD \text{ (Calibrator, Control or Sample)}}{OD \text{ (Zero Calibrator)}} \times 100$$

- 4. Using either linear-linear of semi-logarithmic graph paper, plot the (B/B0(%)) values for each calibrator point as a function of the IGF1 concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
- 5. Computer assisted methods can also be used to construct the calibration curve. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.

By interpolation of the sample (B/B0 (%)) values, determine the IGF1 concentrations of the samples from the calibration curve

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

IGF1-EASIA		OD units
Calibrator		
	0 ng/ml	2.33
	75.2 ng/ml	1.71
	190 ng/ml	1.18
	454 ng/ml	0.76
	1253 ng/ml	0.38
	3132 ng/ml	0.23

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection Limit

Sixteen zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations below the average OD at zero binding, was 1.1 ng/ml

B. Specificity

The percentages of cross-reaction estimated by comparison of the concentration yielding a 50% inhibition are respectively:

Compound	Cross-Reactivity (%)
IGF-I	100.0
IGF-II	0.7
Insuline	ND
GH	ND

Note: this table shows the cross-reactivity for the anti IGF-I.

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A B	10	198.2±11.2	5.6	A B	9	193.3±22.27	11.5
	10	511..2 ± 21.5	4.2		9	466.15±27.2	5.2

SD : Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST

Sample	Added IGF1 (ng/ml)	Recovered IGF1 (ng/ml)	Recovery (%)
Serum 1	750	897	120
	375	400	106
Serum 2	750	808	107
	375	329	88

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (ng/ml)	Measured Concent. (ng/ml)
Serum A	1/1	-	773
	1/2	386	407
	1/4	193	239
	1/8	97	105
Serum B	1/1		603
	1/2	301	318
	1/4	150.5	176
	1/8	75.2	96

Samples were diluted after extraction with zero calibrator

Conversion factor:

From ng/ml to nmol/L: x 0.1307
From nmol/L to ng/ml: x 7.649

E. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 30 minutes after the calibrators have been added to the coated wells.

TIME DELAY		
	0 min	30 min
S1	209.14	191.7
S2	312.5	270.8

XIV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- § If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- § If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots. Controls which contain azide will interfere with the enzymatic reaction and cannot be used.
- § Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises
- § It is recommended that Controls be routinely assayed as unknown samples to measure assay variability. The performance of the assay should be monitored with quality control charts of the controls.
- § It is good practise to check visually the curve fit selected by the computer.

XV. REFERENCE INTERVALS

These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

Age Group	MALES (ng/ml)			FEMALES (ng/ml)		
	Mean	Range	N	Mean	Range	N
0 - 2 years	81	19-241	15	70	15-217	11
3 - 5 years	62	15-168	12	78	35-184	13
6 - 8 years	106	46-208	17	121	45-262	13
9 - 11 years	146	32-376	21	215	91-611	10
12 - 14 years	203	75-373	18	281	102-486	14
15 - 17 years	382	63-735	21	327	125-624	20
18 - 20 years	318	78-584	10	203	39 -402	9
21 – 30 years	157	85-240	11	191	86-338	10
31 - 40 years	114	54-190	13	129	75-237	12
41 -50 years	151	79-327	20	126	59-210	15
51 - 60 years	147	51-297	16	120	31-227	15
> 60 years	101	24-186	22	99	53-208	21

XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For *in vitro* diagnostic use only.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with all reagents, Stop Solution contains HCl. In case of contact, wash thoroughly with water.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVII. BIBLIOGRAPHY

1. DAUGHADAY W.H. and ROTWEIN P. (1989)
Insulin-like growth factors I and II. peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations.
Endocrine Rev., 10(1) : 68-91.

2. FROESCH E.R. and ZAPF J. (1985)
Insulin-like growth factors and insulin : comparative aspects.
Diabetologia, 28 : 485-493.

3. FURLANETTO R.W., UNDERWOOD L., VAN WYK J.J., D’ERCOLE A.J. (1977)
Estimation of spmatomedin-C levels in normals and patients with pituitary disease by radioimmunoassay.
J. Clin. Invest. 60 : 648.

4. ROSENFELD R.G., WILSON D.M., LEE P.D.K. and HINTZ R.L. (1986)
Insulin-like growth factors I and II in evaluation of growth retardation.
J. Pediatr., 109 : 428.

5. RUDMAN D., KUTNER M.H. and CHAWLA R.K. (1985)
The short child with subnormal plasma somatomedin-C.
Pediatric Res., 19(10) : 975-980.

6. ALBERTSSON-WIKLAND K. and HALL K. (1987)

Growth hormone treatment in short children : relationship between growth and serum insulin-like growth factor I and II levels.
J. Clin. Endocrinol Metab., 65 : 671.

7. WASS J.A.H., CLEMMONS D.R., UNDERWOOD L.E., BARROW L., BESSER G.M. and VAN WYK J.J. (1982)
Changes in circulating somatomedin-C levels in bromocriptine treated acromegaly.
Clin. Endocrinol., 17 : 369-377.

8. DAUGHADAY W.H., MARIZ I.K. and BLETHEN S.L. (1980)
Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites - a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol extracted serum.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 51 : 781.

9. BREIERB.H., GALLAHER B.W. and GLUCKMAN P.D. (1991)
Radioimmunoassay for insulin-like growth factor-I : solutions to some potential problems and pitfalls.
Journal of Endocrinology, 128 : 347-357.

10. SCHOUTEN J.S.A.G. and al. (1993)
IGF1 : a prognostic factor of knee osteoarthritis.
British J. Rheumatol., 32 : 274-280.

11. GRONBAEK H., SKJAERBAEK C., NIELSEN B., FRYSTYK J., FOEGH M.L., FLYVBJERG A., ORSKOV H. (1995)
Growth hormone and insulin-like growth factor-I: a suggested role in renal transplantation and graft vessel disease.
Transplant. Proceed., 27/3 : 2133-2136.

12. TSITOURAS P.D., ZHONG Y.G., SPUNGEN A.M., BAUMAN W.A. (1995)
Serum testosterone and growth hormone insulin-like growth factor-I in adults with spinal cord injury.
Hormone and metabolic Research , 27/6 : 287-292.

13. KOCH A., DORR H.G., GERLING S., BEHRENS R., BOHLES H.J. (1995)
Effect of growth hormone on IDF-I levels in patients with growth hormone deficiency and Wilson disease.
Hormone Research, 44/1 : 40-44.

XVIII.**SUMMARY OF THE PROTOCOL**

	CALIBRATORS µl	SAMPLE(S) CONTROLS µl
<u>PRE-TREATMENT</u>		
Samples, controls	-	100
Pre-treatment solution	-	400
Incubation Centrifugation	30 minutes RT 2 minutes at 10000 rpm (microfuge tubes) or 15 minutes at > or = 3000 rpm (polypropylene tubes)	
Supernatant	-	100
Neutralization Solution	-	600
Shaking	Vortex	
<i>INCUBATION</i>		
Calibrators (0 to 5)	50	-
Pre-treated Samples, controls	-	50
Diluted Conjugate	100	100
Incubate for 1 hour at room temperature. Aspirate the contents of each well. Wash 3 times with 400 µl of Wash Solution and aspirate.		
Chromogenic Solution	100	100
Incubate for 30 min at room temperature		
Stop Solution	100	100
Read on a microtiterplate reader and record the absorbance of each well at 450 nm (versus 630 or 650 nm)		

DIAsource Catalogue Nr: KAP1581	P.I. Number : 1700772 / en	Revision nr : 090505/1
------------------------------------	-------------------------------	---------------------------

Revision date: 2009-05-05

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

IGF1-EASIA

I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie immunoenzymatyczne do ilościowego pomiaru *in vitro* ludzkiego insulinopochodnego czynnika wzrostu I (IGF-I) w surowicy.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. Nazwa firmowa: DIAsource IGF1-EASIA
- B. Numer katalogowy: KAP1581 : 96 oznaczeń
- C. Wyprodukowano przez: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel.: +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

III. INFORMACJE KLINICZNE

A. Aktywność biologiczna

Insulinopochodny czynnik wzrostu I (IGF-I) lub somatomedyna C (SM-C) jest jednołańcuchowym polipeptydem składającym się z 70 aminokwasów (masa cząsteczkowa: 7649) i przypomina proinsulinę (50% homologia sekwencji) oraz inną dobrze znaną somatomedynę: IGF-II (67 aminokwasów, 70% homologia sekwencji z IGF-I). IGF-I jest najważniejszym czynnikiem, który promuje działanie hormonu wzrostu, hormonu przysadkowego, który w związku z okresowym wydzielaniem charakteryzuje się dużymi wahaniami poziomów we krwi obwodowej. Stężenie IGF-I we krwi jest bardziej stabilne ze względu na wiązanie się z nośnikami białkowymi. Stężenie dominującego białka wiążącego (masa cząsteczkowa 53000) podobnie jak produkcja IGF-I są regulowane przez hormon wzrostu. IGF-I jest wytwarzany przez wątrobę i inne tkanki i ma właściwości endokrynowe, parakrynowe i autokrynowe. Stymuluje wzrost i ma wpływ na różnicowanie różnych tkanek, przejawia aktywność przypominającą insulinę i ułatwia wzrost chrząstki. Chociaż GH jest najważniejszym czynnikiem mającym wpływ na wydzielanie i stężenie IGF-I, inne czynniki są również istotne: wiek (szczytowe wartości w czasie pokwitania), płeć, stan odżywienia i inne hormony (estrogeny, tyroksyna, prolaktyna,...). Wydzielanie IGF-I w lokalnym mikrośrodkowisku w określonej tkance jest kontrolowane przez swoiste stymuliny troficzne (działanie parakrynowe), podczas gdy na stężenie IGF-I we krwi największy wpływ ma zbilansowany proces wzrostu całego ustroju (działanie endokrynowe).

B. Zastosowanie kliniczne

Upośledzenie wzrostu: Upośledzenie wzrostu może wynikać z wielu przyczyn, między innymi z powodu niedoboru wytwarzania GH (niewydolność przysadkowa), który związany jest z niskimi poziomami IGF-I we krwi. Ze względu na trudności związane z uzyskaniem właściwych do interpretacji wyników pomiarów GH (konieczność wykonywania badań dynamicznych lub testów stymulacji), określenie stabilnego stężenia IGF-I w osoczu jest często brane pod uwagę jako proste badanie przesiewowe w celu określenia "nasylenia GH" u pacjenta przez rozpoczęciem bardziej szczegółowej diagnostyki. W niektórych stanach klinicznych związanych z zaburzeniami wzrostu, niskie poziomy IGF-I mogą być obserwowane pomimo prawidłowej lub wysokiej produkcji GH (np.: w niedożywieniu, przewlekłych stanach chorobowych, w niektórych rodzajach karłowatości wrodzonej np.: u Pigmejów,...). Ciekawym zjawiskiem jest występowanie niskich poziomów IGF-I u dzieci z niewielką dysfunkcją neuro-wydzielniczą GH pomimo prawidłowych poziomów GH wykrywanych w badaniach konwencjonalnych. Biorąc pod uwagę fizjologiczną zmienność IGF-I w dzieciństwie i okresie dojrzewania, wyniki oznaczenia IGF-I muszą być interpretowane z ostrożnością (szczegóły w opracowaniu Rosenfeld i wsp.).

Akromegalia : Poziomy IGF-I są podwyższone w akromegalii (nadmierna produkcja GH) i mogą służyć jako wskaźnik stopnia ciężkości choroby. Wyniki mogą być łatwiej interpretowane z uwagi na to, że u dorosłych wartości referencyjne mogą być łatwiej określone. Pomiary IGF-I są również przydatne do monitorowania leczenia.

Badania naukowe: Zestaw do badania IGF-I RIA jest dostępnym narzędziem do badania modyfikacji tego czynnika wzrostu w warunkach fizjologicznych (np.: ciąży) lub patologicznych (np.: cukrzyca), oraz do oceny miejscowej regulacji wytwarzania IGF-I w odniesieniu do działania parakrynowego i autokrynowego (leczenie ran, regeneracja narządów, wzrost nowotworowy, rozwój płodu, regulacje związane z narządami płciowymi itp.)

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

Test DIAsource IGF1-EASIA jest przeprowadzanym w fazie stałej oznaczeniem immunoenzymatycznym z amplifikacją czułości, wykonywanym na odlamywanych mikropłytkach.

W obecnym zestawie, DIAsource wprowadził etap przygotowawczy, którego celem jest polepszenie charakterystyki klinicznej testu. Interferencja białek wiążących z testem EASIA do oznaczania IGF1 została dobrze udokumentowana. Etap przygotowawczy wykorzystywany w oznaczeniu DIAsource jest procedurą etanolową w środowisku kwaśnym, opisaną przez Daughaday’a i wsp. (8).

Znana ilość IGF1 znakowanego peroksydazą chrzanową (HRP), współzawodniczy z nieznakowanym IGF1 obecnym w kalibratorach, kontrolach i próbkach o ograniczonej liczbie miejsc wiążących swoistego przeciwciała. Po jednogodzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej, mikropłytkę jest przemycana w celu zatrzymania reakcji współzawodnictwa. Następnie dodawany jest roztwór chromogeny (TMB) i przeprowadzana 30-minutowa inkubacja. Reakcja jest zatrzymywana przez dodanie roztworu hamującego reakcję i następnie mikropłytkę jest odczytywana przy odpowiedniej długości fali. Ilość związanego substratu jest oznaczana kolorymetrycznie, poprzez pomiar absorbancji, której wartość jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia IGF1. Wykreślana jest krzywa kalibracyjna a stężenia IGF1 w próbkach są określane przez interpolację z krzywej kalibracyjnej.

V. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE

Odczynniki	Zestaw 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstytucja
 Mikropłytkę z 96 odlamywanymi studzienkami pokrytymi przeciwciałami anti-IGF1	96 studzienek	niebieski	Gotowy do zastosowania
Ag HRP CONC Koniugat: IGF1 znakowane HRP w buforze fosforanowym z kazeiną i tymolem	1 fiolka 0,2 ml	czerwony	Rozcieńcz 100 x buforem koniugatu
CONJ BUF Bufor koniugatu: Bufor fosforanowy z kazeiną i tymolem	1 fiolka 11,5 ml	czerwony	Gotowy do zastosowania
PRE SOLN Roztwór przygotowawczy zawierający etanol	1 fiolka 20 ml	czarny	Gotowy do zastosowania
REC SOLN Roztwór do rekonstytucji zawierający etanol	1 fiolka 10 ml	niebieski	Gotowy do zastosowania
NEUTR SOLN Roztwór neutralizujący zawierający bufor fosforanowy z kazeiną bydlęcą i azykiem (<0,1%)	1 fiolka 30 ml	zielony	Gotowy do zastosowania
CAL 0 Kalibrator zerowy w buforze fosforanowym z kazeiną bydlęcą	1 fiolka materiał liofilizowany	żółty	Dodaj 1,0 ml roztworu do rekonstytucji
CAL N Kalibratory - N = od 1 do 5 (dokładne wartości na etykietach fiolek) w buforze fosforanowym z kazeiną bydlęcą.	5 fiolek materiał liofilizowany	żółty	Dodaj 1,0 ml roztworu do rekonstytucji
CONTROL N Kontrola - N = od 1 do 2 w surowicy ludzkiej z tymolem	2 fiolek materiał liofilizowany	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej
WASH SOLN CONC Roztwór płuczący (TRIS HCl)	1 fiolka 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 200x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
CHROM TMB Chromogeny roztwór TMB (tetrametylobenzyna)	1 fiolka 12 ml	brązowy	Gotowy do zastosowania

STOP SOLN	1 fiolka 12 ml	biały	Gotowy do zastosowania
Roztwór hamujący reakcję: HCl 1.0 N			

Uwaga: 1. Dla rozcieńczeń próbek należy stosować kalibrator zerowy.
2. 1 ng przygotowanego kalibratora jest równoważny 1 ng pierwszego IRR 87/518 - NIBSC.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

- Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:
- Wysokiej jakości woda destylowana
 - Pipety do dozowania: 50 µl, 100 µl, 400 µl, 500 µl, 600 µl i 1 ml (zaleca się korzystanie z dokładnych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
 - Opcjonalnie: próbki do mikrowirowania w polipropylenie do przygotowywania próbek (przykładowo: Eppendorf 3810)
 - Próbki polipropylenowe dla etapu neutralizacji (przykładowo: Falcon 352063)
 - Mieszadło wirowe
 - Mieszadło magnetyczne
 - Mikrowirówka lub wirówka
 - Przemycarka dla mikropłatek
 - Czytnik mikropłatek o możliwości odczytu w pasmach 450 nm i 650 nm (odczyt monochromatyczny)

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kalibratory:** Rekonstruować kalibratory przy pomocy 1 ml roztworu do rekonstytucji.
- B. **Kontrola:** Kontrola należy rekonstruować przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- C. **Roboczy roztwór koniugatu IGF1-HRP:** Przygotować właściwą objętość roztworu koniugatu poprzez dodanie, przykładowo: 20 µl rozcieńczonego 100 x stężonego koniugatu IGF1-HRP do 2 ml buforu koniugatu. Homogenizować roztwór wortexem. Zalecane jest doraźne przygotowanie roztworu.
- D. **Roboczy roztwór płuczący:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczącego należy przygotować dodając 199 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczającego (200x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczający należy wylać pod koniec dnia.

VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- § Przed otwarciem lub rekonstytucją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykietach, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- § Niezużyte paski muszą być przechowywane do momentu upływu daty ważności w temperaturze 2-8°C, w szczelnym woreczku z substancją osuszającą.
- § Po rekonstytucji, kalibratory i kontrola zachowują trwałość przez 1 tydzień, pod warunkiem przechowywania w temperaturze od 2 do 8°C. W celu dłuższego przechowywania, należy zamrozić w małych objętościach. Możliwe jest wówczas przechowywanie przez maksymalnie 3 miesiące, w temperaturze -20°C. Unikać powtórnego zamrażania i rozmrażania.
- § Stężony roztwór płuczający jest stabilny w temperaturze pokojowej do momentu upływu daty ważności.
- § Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczający powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- § Roboczy roztwór IGF1-HRP jest stabilny przez 4 godziny w temperaturze pokojowej; unikać bezpośredniego światła słonecznego.
- § Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- § Próbki surowicy muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- § Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 24 godzin, niewielkie objętości należy przechowywać w temperaturze -20°C. Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.
- § Przed użyciem, wszystkie próbki powinny osiągnąć temperaturę pokojową. Zaleca się wortexowanie próbek przed użyciem.
- § Nie należy wykorzystywać próbek zhemolizowanych.

X. PROCEDURA

- A. **Uwagi dotyczące obsługi**
Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie daty ważności.

Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową. Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie. Kalibratory, kontrole i próbki oznacz podwójnie. Zalecane jest ustawienie pionowe. Do przygotowania roztworu płuczącego użyj czystego, plastikowego pojemnika. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego, do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste końcówki jednorazowe pipet. Do odczytywania roztworu chromogenego i roztworu hamującego reakcję należy unikać stosowania pipet z metalowymi końcówkami. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia. Przestrzegać czasów inkubacji. W celu uniknięcia płynięcia parametrów, czas pomiędzy odczytaniem pipetą pierwszego kalibratora i ostatniej próbki musi być ograniczony do czasu podanego w akapicie E sekcji XIII (Opóźnienie czasowe). Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń. Odczytać roztwór chromogeny w czasie 15 minut od momentu przemycia mikropłytki. Podczas inkubacji roztworu chromogenego należy unikać narażania mikropłytki na bezpośrednie działanie światła słonecznego.

B.1. Etapy przygotowania próbek do mikrowirowania

! Nie ekstrahować kalibratorów

- 1. Dla każdej próbki i kontroli, oznaczyć jedną próbkę do mikrowirowania (do ekstrakcji) i jedną próbkę polipropylenową (do neutralizacji).
- 2. Odmierzyć 100 µl każdej próbki i kontroli do próbki do mikrowirowania.
- 3. Do tej próbki dodać 400µl roztworu przygotowawczego.
- 4. Zamknąć próbki, worteksować i inkubować 30 minut w temperaturze pokojowej.
- 5. Odwirować przez 2 minuty w 10000 rpm.
- 6. Odciągnąć 100 µl supernatantu i przenieść do oznaczonej próbki polipropylenowej.
- 7. Do próbki tej dodać 600 µl roztworu neutralizującego.
- 8. Każda próbka musi być wymieszana przez wirowanie.

B.2. Etapy przygotowania dla innych próbek polipropylenowych

! Nie ekstrahować kalibratorów

- 1. Dla każdej próbki i kontroli, oznaczyć dwie próbki polipropylenowe (jedną do ekstrakcji i jedną do neutralizacji).
- 2. Odmierzyć 100 µl każdej próbki i kontroli do próbki do ekstrakcji.
- 3. Do tej próbki dodać 400µl roztworu przygotowawczego.
- 4. Zamknąć próbki, worteksować i inkubować 30 minut w temperaturze pokojowej.
- 5. Odwirować przez 15 minut w > lub = 3000 rpm.
- 6. Odciągnąć 100 µl supernatantu i przenieść do oznaczonej próbki polipropylenowej.
- 7. Do próbki tej dodać 600 µl roztworu neutralizującego.
- 8. Każda próbka musi być wymieszana przez wirowanie.

C. Procedura

- 1. Wybrać żadaną liczbę studzienek do oznaczenia. Nieużyte studzienki powinny być ponownie zamknięte w szczelnym woreczku ze środkiem osuszającym i przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- 2. Umieścić studzienki w oprawie.
- 3. Odmierzyć pipetą 50 µl każdego z kalibratorów, ekstrahowanej kontroli i ekstrahowanej próbki do odpowiednich studzienek.
- 4. Odmierzyć pipetą do wszystkich studzienek po 100 µl roztworu koniugatu IGF1-HRP.
- 5. Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej.
- 6. ZaaSPIrować płyn z każdej studzienki.
- 7. Trzykrotnie przepłukać płytkę:
§ odczytać do każdej studzienki po 0,4 ml roztworu płuczącego;
§ zaaSPIrować zawartość każdej studzienki.
- 8. W czasie 15 minut od momentu zakończenia przepłukiwania, odczytać do każdej studzienki po 100 µl roztworu chromogenego.
- 9. Inkubować mikropłytkę przez 30 minut w temperaturze pokojowej; unikać bezpośredniego światła słonecznego.
- 10. Odmierzyć pipetą do wszystkich studzienek po 100 µl roztworu hamującego reakcję.
- 11. W czasie 1 godziny odczytać absorbancje dla 450 nm (filtr referencyjny 630 nm lub 650 nm) i wyliczyć wyniki w sposób opisany w sekcji XI.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

- 1. Odczytać płytkę dla 450 nm z użyciem filtra referencyjnego ustawionego na 650 nm (lub 630 nm).

- 2. Obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
- 3. Obliczyć wartości dla każdego kalibratora, kontroli i próbki:

$$B/B0(\%) = \frac{OD \text{ (Kalibrator, Kontrol lub próbki)}}{OD \text{ (Kalibrator zerowy)}} \times 100$$

- 4. Na papierze milimetrowym liniowo-liniowym lub półlogarytmicznym wykreślić wartości (B/B0(%)) dla każdego punktu kalibratora jako funkcję stężenia IGF-I każdego punktu kalibratora. Odrzucić oczywiste wartości graniczne.
 - 5. Do opracowania krzywej kalibracyjnej mogą być wykorzystane również metody wspomagania komputerowego. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.
- Nakładając wartości (B/B0 (%)) próbki należy określić stężenia IGF-I w próbkach z krzywej kalibracyjnej.

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

IGF1-EASIA		Jednostki OD
Kalibrator	0 ng/ml 75,2 ng/ml 190 ng/ml 454 ng/ml 1253 ng/ml 3132 ng/ml	2,33 1,71 1,18 0,76 0,38 0,23

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

A. Granica wykrywania

Szesnaście kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów. Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmierzone stężenie dwóch odchyłeń standardowych poniżej przeciętnej wartości OD przy wiązaniu zerowym, kształtowała się na poziomie 1,1 ng/ml.

B. Swoistość

Odsetki reaktywności krzyżowej uzyskane przez porównanie stężenia uzyskującego 50% hamowanie są następujące:

Składnik	Reaktywność krzyżowa (%)
IGF-I	100,0
IGF-II	0,7
Insulina	brak
GH	brak

Uwaga: tabela przedstawia reaktywność krzyżową dla anty-IGF-I.

C. Precyzja

PRECYZJA W SERII				PRECYZJA MIĘDZY SERIAMI			
Surowi ca	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Surowi ca	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	10	198,2±11,2	5,6	A	9	193,3±22,27	11,5
B	10	511,2 ± 21,5	4,2	B	9	466,15±27,2	5,2

SD: Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

D. Dokładność

BADANIE ODZYSKU

Próbka	dodano IGF1 (ng/ml)	Odzyskany IGF1 (ng/ml)	Odzysk (%)
Surowica 1	750	897	120
	375	400	106
Surowica 2	750	808	107
	375	329	88

BADANIE ROZCIEŃCZENIA

Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (ng/ml)	Stęż. zmierzone (ng/ml)
Surowica A	1/1	-	773
	1/2	386	407
	1/4	193	239
	1/8	97	105
Surowica B	1/1		603
	1/2	301	318
	1/4	150.5	176
	1/8	75.2	96

Po ekstrakcji, próbki zostały rozcieńczone za pomocą kalibratora zerowego.

Współczynnik przeliczeniowy:

Z ng/ml na nmol/l: x 0.1307

Z nmol/l na ng/ml: x 7.649

E. Odstęp czasowy pomiędzy dozowaniem ostatniego kalibratora i próbki

Jak tutaj wykazano, wyniki testu pozostają dokładne nawet wówczas, gdy próbka zostanie dozowana w 30 minut po dodaniu kalibratorów do opłaszczonych studzienek.

ODSTĘP CZASOWY			
	0 min	30 min	
S1	209,14	191,7	
S2	312,5	270,8	

XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- § Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- § Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach. Kontrole zawierające azydek interferują z reakcją enzymatyczną i nie mogą być stosowane.
- § Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium
- § Zaleca się, aby w celu określenia zmienności oznaczenia rutynowo oznaczać kontrole jako nieznaną próbkę. Charakterystyki kliniczne testu powinny być monitorowane z użyciem arkusza kontroli jakości kontroli.
- § Dobrą praktyką jest wzrokowe sprawdzanie dopasowania krzywej wybranej przez komputer.

XV. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości są przedstawione wyłącznie w celach orientacyjnych, każde laboratorium powinno opracować własne wartości referencyjne.

Grupa wiekowa	MĘŻCZYŹNI (ng/ml)			KOBIETY (ng/ml)		
	Średnia	Zakres	N	Średnia	Zakres	N
0 - 2 lat	81	19-241	15	70	15-217	11
3 - 5 lat	62	15-168	12	78	35-184	13
6 - 8 lat	106	46-208	17	121	45-262	13
9 - 11 lat	146	32-376	21	215	91-611	10
12 - 14 lat	203	75-373	18	281	102-486	14
15 - 17 lat	382	63-735	21	327	125-624	20
18 - 20 lat	318	78-584	10	203	39 -402	9
21 - 30 lat	157	85-240	11	191	86-338	10
31 - 40 lat	114	54-190	13	129	75-237	12
41 -50 lat	151	79-327	20	126	59-210	15
51 - 60 lat	147	51-297	16	120	31-227	15
> 60 lat	101	24-186	22	99	53-208	21

XVI. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki *in vitro*.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anti-HCV, anti-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby,

AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydlęce pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.

Unikać kontaktu skóry z odczynnikami. Roztwór hamujący reakcję zawiera HCl. W razie kontaktu, należy dokładnie przemyć miejsce wodą.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

XVII. BIBLIOGRAFIA

- DAUGHADAY W.H. and ROTWEIN P. (1989)
Insulin-like growth factors I and II. peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations.
Endocrine Rev., 10(1) : 68-91.
- FROESCH E.R. and ZAPP J. (1985)
Insulin-like growth factors and insulin : comparative aspects.
Diabetologia, 28 : 485-493.
- FURLANETTO R.W., UNDERWOOD L., VAN WYK J.J., D'ERCOLE A.J. (1977)
Estimation of somatomedin-C levels in normals and patients with pituitary disease by radioimmunoassay.
J. Clin. Invest. 60 : 648.
- ROSENFELD R.G., WILSON D.M., LEE P.D.K. and HINTZ R.L. (1986)
Insulin-like growth factors I and II in evaluation of growth retardation.
J. Pediatr., 109 : 428.
- RUDMAN D., KUTNER M.H. and CHAWLA R.K. (1985)
The short child with subnormal plasma somatomedin-C.
Pediatric Res., 19(10) : 975-980.
- ALBERTSSON-WIKLAND K. and HALL K. (1987)
Growth hormone treatment in short children : relationship between growth and serum insulin-like growth factor I and II levels.
J. Clin. Endocrinol Metab., 65 : 671.
- WASS J.A.H., CLEMMONS D.R., UNDERWOOD L.E., BARROW L., BESSER G.M. and VAN WYK J.J. (1982)
Changes in circulating somatomedin-C levels in bromocriptine treated acromegaly.
Clin. Endocrinol., 17 : 369-377.
- DAUGHADAY W.H., MARIZ I.K. and BLETHEN S.L. (1980)
Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites - a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol extracted serum.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 51 : 781.
- BREIERB.H., GALLAHER B.W. and GLUCKMAN P.D. (1991)
Radioimmunoassay for insulin-like growth factor-I : solutions to some potential problems and pitfalls.
Journal of Endocrinology, 128 : 347-357.
- SCHOUTEN J.S.A.G. and al. (1993)
IGF1 : a prognostic factor of knee osteoarthritis.
British J. Rheumatol., 32 : 274-280.
- GRONBAEK H., SKJAERBAEK C., NIELSEN B., FRYSTYK J., FOEGH M.L., FLYVBJERG A., ORSKOV H. (1995)
Growth hormone and insulin-like growth factor-I: a suggested role in renal transplantation and graft vessel disease.
Transplant. Proceed., 27/3 : 2133-2136.
- TSITOURAS P.D., ZHONG Y.G., SPUNGEN A.M., BAUMAN W.A. (1995)
Serum testosterone and growth hormone insulin-like growth factor-I in adults with spinal cord injury.
Hormone and metabolic Research , 27/6 : 287-292.
- KOCH A., DORR H.G., GERLING S., BEHRENS R., BOHLES H.J. (1995)
Effect of growth hormone on IGF-I levels in patients with growth hormone deficiency and Wilson disease.
Hormone Research, 44/1 : 40-44.

XVIII.**PODSUMOWANIE PROTOKOŁU**

	KALIBRATORY μl	PRÓBKİ KONTROLE μl
<u>PRZYGOTOWANIE</u>		
Próbki , kontrole	-	100
Roztwór przygotowawczy	-	400
Inkubacja Odwirowanie	30 minut RT 2 minuty przy 10000 rpm (próbówki do mikrowirowania) lub 15 minut przy > lub = 3000 rpm (próbówki polipropylenowe)	
Supernatant	-	100
Roztwór neutralizujący	-	600
Wytrząsanie	Mieszadło wirowe	
<u>INKUBACJA</u>		
Kalibratory (0 - 5)	50	-
Próbki przygotowawcze, kontrole	-	50
Rozcieńczony koniugat	100	100
Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Zaaspirować zawartość każdej studzienki. Przepłukać trzykrotnie z użyciem 400 μl roztworu płuczącego i zaaspirować.		
Roztwór chromogeny	100	100
Inkubować przez 30 minut w temperaturze pokojowej		
Roztwór hamujący reakcję	100	100
Odczytać na czytniku mikropłytek i zarejestrować absorbancję każdej studzienki przy 450 nm (względem 630 lub 650 nm).		

Nr katalogowy DIAsource: KAP1581	Numer P.I. : 1700772 / pl	Nr aktualizacji: 090505/1
--	------------------------------	------------------------------

Data wydania: 2009-05-05

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Buisjes	Röhrchen
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjuaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjuaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjuaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjuaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjuaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjuaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjuaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Polietileno-glicol	Polyetylglykol
	Solução de Extracção	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stopplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιχνηθέτης	Markør
	Ιχνηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σωληνάριο	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<u>Stosowane symbole</u>	<u>Használt szimbólumok</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunadszorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietilén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extrakciós oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikro płytki	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
IVD	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
	Микротитърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично анти тяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ анти тяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер