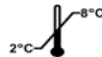


## Інструкція з використання Гормон росту HGH ІФА

**REF** ME E-0200

96

**IVD****CE**

Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@novamedline.com, www.novamedline.com

## **ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ**

Для прямого кількісного визначення гормону росту імуноферментним аналізом у сироватці крові людини. Тільки для діагностики in vitro.

## **ПРИНЦИП ТЕСТУ**

Принцип наступного імуноферментного аналізу дотримується типового одноступеневого захоплення або "сендвіч" аналіз. Аналіз використовує два високоспецифічних моноклональних антитіла: моноклональне антитіло, специфічне для hGH, іммобілізовано на мікропланшеті та інше моноклональне антитіло, специфічне для іншої області hGH кон'юговане до пероксидази хрому (HRP). hGH зразка і стандартів дозволяють зв'язуватися одночасно до планшету та до кон'югату HRP. Етапи промивки та спорожнення видаляють будь-який незв'язаний HRP кон'югат. Після етапу промивання додають ферментний субстрат. Ферментативна реакція припиняється додаванням стоп розчину. Поглинання вимірюється рідером мікропланшета. Інтенсивність кольору, утворена ферментативною реакцією, прямо пропорційна концентрації hGH у зразку. Сукупність стандартів використовується для побудови стандартної кривої, з якої кількість hGH у зразках пацієнтів і контролях можна безпосередньо прочитати.

## **КЛІНІЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ**

Гормон росту людини (hGH) - поліпептид з 191 амінокислот, секретований соматотропними клітинами переднього гіпофізу. Гормон росту є головним регулятором росту тіла, і його метаболічні ефекти перш за все анаболічні. Деякі його ефекти включають сприяння збереженню протеїну за рахунок його участі в широкому діапазоні механізмів синтезу білка, посилення транспорту глюкози та полегшення зберігання глікогену. Крім того, він спонукає до вивільнення соматомединів (інсуліноподібних факторів росту), які надалі опосередковують каскад заходів, що сприяють росту.

Вимірювання hGH в першу чергу цікаво для діагностики та лікування різних форм зниження секреції hGH. Гіпосекреція hGH у дітей призводить до затримки зростання, гіперсекреція призводить до гігантизму у дітей та акромегалії у дорослих.

Секреція hGH змінюється впродовж дня під впливом складних нейрогенного, метаболічного та гормонального контролю. Внаслідок пульсуючого характеру вивільнення hGH часто визначають референтний діапазон і статус, що базується на одиничних вимірюваннях сироватки. Для діагностики порушень секреції hGH використовуються більш надійні, динамічні тести, в яких вимірюються рівні гемоглобіну в сироватці протягом періоду після придушення або стимуляції hGH секреції.

## **ПРОЦЕДУРНІ ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ**

1. Користувачі повинні мати глибоке розуміння цього протоколу для успішного використання цього набору. Надійна продуктивність буде досягнута лише шляхом суворого та ретельного дотримання наданих інструкцій.
2. Контрольні матеріали або сироваткові бали повинні бути включені в кожний пробіг на високому та низькому рівні для оцінки надійності результатів.
3. Коли використання води вказано в інструкції для розведення або відновлення, використовуйте дейонізовану або дистильовану воду.
4. Щоб зменшити вплив потенційно шкідливих речовин, під час експлуатації набору потрібно носити рукавички при обертанні реагентів та зразків людини.
5. Всі реагенти та зразки наборів повинні бути доведені до кімнатної температури та змішані м'яко, але ретельно перед використанням. Уникайте повторного заморожування та відтавання реагентів та зразків.
6. Для кожного прогону має бути встановлена стандартна крива.
7. Контроль повинен бути включений у кожний прогон та знайдений в встановлених довірчих межах.
8. Неправильні процедурні методи, неточне піпетування, неповна промивка, а також неправильне зберігання реагенту може бути вказано, коли значення аналізу для контролів не відображають встановлені діапазони.
9. При читанні мікропланшету наявність бульбашок у лунках вплине на оптичну густина (ОГ). Перед виконанням кроку читання ретельно видаліть всі бульбашки.
10. Розчин субстрату (ТМБ) чутливий до світла і, якщо він правильно зберігається, повинен залишатись безбарвним. Нестабільність або забруднення може бути позначено розвитком синього кольору, в цьому випадку він не повинен бути використаний.
11. При дозуванні субстрату та стоп розчину не використовуйте піпетки, в які ці рідини приходять в контакт з будь-якими металевими деталями.
12. Щоб запобігти забрудненню реагентів, використовуйте новий одноразовий наконечник піпетки для видачі

кожного реагенту, зразку, стандарту і контролю.

13. Не змішуйте різні партії компонентів набору в рамках тесту і не використовуйте будь-який компонент поза межами терміну придатності, вказаному на етикетці.

14. Реактиви набору повинні розглядатися як небезпечні відходи та утилізуватися відповідно до національних правил.

#### **ОБМЕЖЕННЯ**

1. Всі реактиви в комплекті калібруються для прямого визначення hGH в сироватці людини. Комплект не є калібрований для визначення hGH у слині, плазмі або інших зразках людини чи тваринного походження.

2. Не використовуйте грубо гемолізовану, грубо ліпемічну, жовтяничну або неправильно збережену сироватку.

3. Будь-які зразки або контрольні сироватки, що містять азид або тимеросал, несумісні з цим набором, так як це може призвести до хибних результатів.

4. Для розбавлення будь-яких високих зразків сироватки можна використовувати тільки стандарт А.

Використання будь-якого іншого реагенту може призвести до помилкових результатів.

5. Результати, отримані з цим набором, ніколи не повинні використовуватися як єдине обґрунтування клінічного діагнозу. Наприклад, виникнення гетерофільних антитіл у пацієнтів, які регулярно піддаються впливу тварин або продуктів тваринного походження має потенціал заподіяння впливу в імунологічні тести. Отже, клінічний діагноз повинен включати в себе всі аспекти фонового стану пацієнта, включаючи частоту впливу тварин / продуктів, якщо помилкові результати підозрюються.

6. Деякі люди можуть мати антитіла до протеїну миші, який може впливати в цьому аналізі. Тому результати будь-яких пацієнтів, які одержали антитіла миші для діагностики або терапії, слід інтерпретувати з обережністю.

#### **ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ**

##### **ПОТЕНЦІЙНО БІОЛОГІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИЙ МАТЕРІАЛ**

Сироватка людини, яка може бути використана при підготовці стандартів і засобів контролю, була протестована та знайдена неактивною для поверхневого антигену гепатиту В і була протестована на наявність антитіл до HCV та вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) і виявилася негативною. Однак ні один тестовий метод не може бути повністю підтвердити, що вірус ВІЛ, ВГС та гепатиту В або будь-які інфекційні агенти відсутні. Реагенти повинні вважатися потенційною біологічною небезпекою та оброблятися з такими ж запобіжними заходами, що й будь-які зразки крові.

##### **ХІМІЧНІ РИЗИКИ**

Уникайте контакту з реагентами, що містять ТМВ, перекис водню та сірчану кислоту. Якщо зв'язано з будь-яким з реагентів, промити великою кількістю води. ТМВ - це підозрюваний канцероген.

##### **ЗБІР ЗРАЗКІВ І ЗБЕРІГАННЯ**

Приблизно 0,1 мл сироватки необхідні для одноразового визначення. Зберіть 4-5 мл крові в відповідним чином помічені пробірки і дозвольте згорнутися. Центрифугувати і ретельно видалити сироватковий пласт. Зберігати при температурі 4 ° С до 24 годин або при -10 ° С або нижче, якщо аналізи повинні бути зроблені пізніше. Розглядати всі людські зразки як можливі біологічно небезпечні речовини та вживати необхідних запобіжних заходів під час обробки.

##### **ПЕРЕДТЕСТОВА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКА**

Цей аналіз - це пряма система; ніякої попередньої обробки зразка не потрібно.

##### **РЕАГЕНТИ ТА ОБЛАДНАННЯ, ЯКІ НЕ НАДАНІ**

1. Точні піпетки для видачі 25, 50, 100 і 300 мкл
2. Одноразові наконечники піпетки
3. Дистильована або дейонізована вода
4. Мікропланшетний шейкер
5. Рідер мікропланшетів з фільтром, встановленим у 450 нм, та верхньою межею ОФ 3.0 або вище\* (див. етап процедури аналізу 10).

## НАДАНІ РЕАГЕНТИ

### 1. AA E-0030 WASH CONC 10 X

#### Буферний концентрат для промивки - X10

Зміст: одна пляшка, що містить буфер з неіонним миючим засобом і консервант, що не містить ртуті.

Об'єм: 50 мл / пляшка

Зберігання: охолодженим при температурі від 2 до 8 ° C

Стабільність: 12 місяців або як вказано на етикетці.

Приготування: Перед використанням розведіть 1:10 у дистильованій або дейонізованій воді. Якщо весь мікропланшет потрібно використовувати, розбавте 50 мл промивного буферного концентрату в 450 мл води.

### 2. AA E-0055 SUBSTRATE ТМБ СУБСТРАТ- готовий до використання.

Зміст: одна пляшка, що містить тетраметилбензидин і перекис водню, в буфері, що не містить ДМФ або ДМСО.

Об'єм: 16 мл / пляшка

Зберігання: охолодженим при температурі від 2 до 8 ° C

Стабільність: 12 місяців або як вказано на етикетці.

### 3. AA E-0080 STOP SOLN стоп розчин - готовий до використання.

Зміст: один флакон містить 1М сірчаної кислоти.

Об'єм: 6 мл / пляшка

Зберігання: охолодженим при температурі від 2 до 8 ° C

Стабільність: 12 місяців або як вказано на етикетці.

Небезпеки



ідентифікація:

H290 Може бути корозійним до металів.

H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей.

## 4. Стандарти та Контролі

- готові до використання.

Нижче наведені приблизні концентрації, будь ласка, зверніться до етикеток флаконів для точних концентрацій:

Кат номер.	Символ	Стандарт	концентрація	об'єм / флакон
ME E-0201	Стандарт А	Стандарт А	0 нг / мл	2,0 мл
ME E-0202	Стандарт В	Стандарт В	1 нг / мл	0,5 мл
ME E-0203	Стандарт С	Стандарт С	5 нг / мл	0,5 мл
ME E-0204	Стандарт D	Стандарт D	10 нг / мл	0,5 мл
ME E-0205	Стандарт E	Стандарт E	25 нг / мл	0,5 мл
ME E-0206	Стандарт F	Стандарт F	50 нг / мл	0,5 мл
ME E-0251	Контроль 1	Контроль 1	Див. Етикетки	0,5 мл
ME E 0252	Контроль 2	Контроль 2	флаконів для очікуваних значень та прийнятного діапазону	0,5 мл

Зміст: hGH в сироватковому буфері з не-ртутним консервантом. Підготовлено збагаченням сироватки з визначеною кількістю hGH. Калібрований проти Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ) 1-й IS 80/505.

Зберігання: охолодженим при температурі від 2 до 8 ° C.

Стабільність: 12 місяців у невідкритих флаконах або як зазначено на етикетці. Після відкриття стандарти повинні використовуватися протягом 14 днів або аліквотувати і зберігати замороженими. Уникайте циклів багаторазового заморожування і розтавання .

#### **5. ME E-0213 буфер аналізу - готовий до використання.**

Зміст: один флакон з білковим буфером з не-ртутним консервантом.

Об'єм: 15 мл / пляшка

Зберігання: охолодженим при температурі від 2 до 8 ° C

Стабільність: 12 місяців або як вказано на етикетці.

#### **6. ME E-0231 Мікропланшет розбірний з покриттям мишачими анти hGH антитілами.**

- Готовий до використання.

Зміст: один 96-лунковий (12x8) моноклональними антитілами покритий мікропланшет у пакеті, що закривається, з осушувачем.

Зберігання: охолодженим при температурі від 2 до 8 ° C

Стабільність: 12 місяців або як вказано на етикетці.

#### **7. ME E-0240 Conjugate CONC 100x Мишачий анти Hgh антитіла пероксидаза хрому (HRP) кон'югат Концентрат - X100**

Зміст: Анти - hGH моноклональні антитіла-HRP кон'югат в буфері на основі білка з не-ртутним консервантом.

Об'єм: 200 мкл / флакон

Зберігання: охолодженим при температурі від 2 до 8 ° C

Стабільність: 12 місяців або як вказано на етикетці.

Приготування: Перед застосуванням розбавте 1: 100 у буфері для аналізу (наприклад, 20 мкл HRP в 2 мл буфера аналізу). Якщо цілий мікропланшет слід використовувати, розбавте 120 мкл HRP в 12 мкл буферу аналізу. Видаліть все, що залишилося зверху.

#### **ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ**

Передтестова підготовка зразка: немає

Всі реагенти повинні досягати кімнатної температури перед використанням. Стандарти, контролю та зразки повинні бути проаналізовані в двох примірниках. Як тільки процедура буде запущена, всі кроки повинні бути завершені без перерви.

1. Підготовка робочих розчинів анти-hGH-HRP-кон'югату та промивного буфера.
2. Видаліть необхідну кількість стріпів з лунками. Закрийте пакет та поверніть будь-які невикористані стріпи до холодильнику.
3. Піпетувати 25 мкл кожного стандарту, контролю та зразку у відповідно мічені лунки в дублікатах.
4. Прокапати 100мкл робочого розчину кон'югату у кожен лунку.  
(Ми рекомендуємо використовувати багатоканальну піпетку).
5. Інкубуйте на шейкері мікропланшетів приблизно 200 об / хв) протягом 1 години при кімнатній температурі.
6. Промити лунки 3 рази 300 мкл розчиненого промивного буфера на лунку та щільно постукайте мікропланшетом об абсорбуючий папір для забезпечення його сухості (рекомендується використовувати вошер).
7. Піпетуйте 100 мкл субстрату ТМБ у кожен лунку з одночасним інтервалом.
8. Інкубуйте мікропланшет на шейкері мікропланшетів при кімнатній температурі протягом 10-15 хвилин (або до того, як стандарт F досягне темно-синього кольору для бажаного значення ОГ ).
9. Піпетуйте 50 мкл стоп розчину в кожен лунку за однакових інтервалів часу, як на етапі 7.
10. Прочитайте планшет на рідері мікропланшетів на 450 нм протягом 20 хвилин після додавання стоп розчину. Якщо ОГ перевищує верхню межу виявлення або фільтр 450 нм недоступний, фільтр 415нм може бути замінено . Оптичні густини будуть нижчими, однак це не вплине на результати пацієнта / контрольні зразки.

## РОЗРАХУНКИ

1. Обчислити середню оптичну густина кожного дублікату стандартів.
2. Обчислити середню оптичну густина кожного невідомого дублікату.
3. Відніміть середнє значення абсорбції стандарту "0" від середніх значень абсорбції стандартів, контролів і зразків сироватки.
4. Намалюйте стандартну криву на логарифмічному папері з середньою оптичною щільністю на вісь Y і концентрацією стандартів осі X. Якщо використовується програмне забезпечення для імуноаналізу, то 4-параметр або 5-параметр крива рекомендовано.
5. Прочитайте значення невідомих безпосередньо зі стандартної кривої.
6. Якщо проба читається більше 50 нг / мл, розбавте її стандартом А при розведенні не більше 1:10. Отриманий результат повинен бути помножений на коефіцієнт розведення.

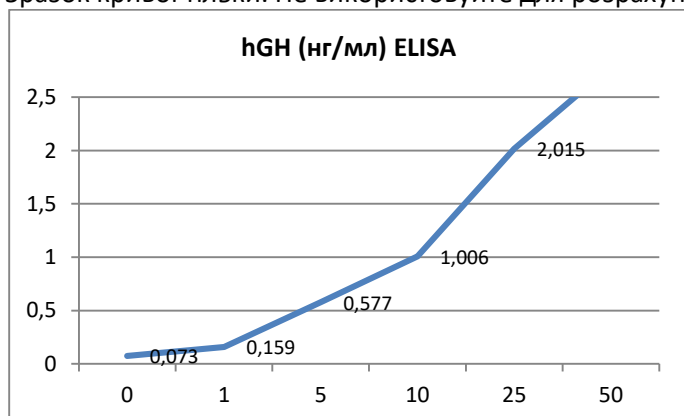
### ТИПОВІ ТАБЛИЧНІ ДАНІ:

Тільки зразок даних. Не використовуйте для розрахунку результатів

СТАНДАРТ	ОГ1	ОГ2	Середня ОГ	Значення нг/мл
A	0,074	0,072	0,073	0
B	0,158	0,159	0,159	1
C	0,574	0,580	0,577	5
D	0,997	1,014	1,006	10
E	2,021	2,009	2,015	25
F	2,809	2,773	2,791	50
невідоме	0,549	0,561	0,555	5,0

### ТИПОВА СТАНДАРТНА КРИВА

Зразок кривої тільки. Не використовуйте для розрахунку результатів.



### ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

#### Чутливість

Нижня межа виявлення розраховується з стандартної кривої за визначенням результуючої концентрації значення ОГ Стандарту А (на базі 10 повторних аналізів) плюс 2 СВ. Тому чутливість прямого Нgh набору ІФА складає 0,2 нг / мл.

#### СПЕЦИФІЧНІСТЬ (перехресна реакція)

Специфічність прямого набору hGH ІФА визначали шляхом вимірювання очевидної величини hGH стандарту А, збагаченого з різними рівнями пролактину.

субстанція	Діапазон концентрація нг/мл	Очевидне значення hGH (нг/мл)
пролактин	50	не визначене
Калібрований проти	100	не визначене
ВОЗ 3-ого IS 84/500	500	не визначене
	1000	не визначене

## В аналізі

Три зразки аналізували по десять разів кожний на тій же стандартній кривій. Результати (в нг / мл) наведено в таблиці нижче:

зразок	значення	СВ	CV%
1	1,46	0,09	5,8
2	12,33	0,68	5,5
3	41,87	0,97	2,3

## ТОЧНІСТЬ МІЖ АНАЛІЗАМИ

Три зразки досліджували десять разів протягом чотирьох тижнів. Результати (в нг / мл) наведені нижче:

зразок	значення	СВ	CV%
1	2,95	0,27	9,0
2	19,29	0,86	4,4
3	36,06	0,72	4,7

## ВІДНОВЛЕННЯ

Збагачені зразки готували шляхом додавання визначених кількостей hGH до трьох зразків сироватки пацієнта. Результати (в нг / мл) наведено нижче:

Зразок	Спостерігаємий результат	Очікуваний результат	Відновлення %
1 незбагачений	Не визначений	-	-
+1.0	0.96	1.0	96.0
+5.0	5.6	5.0	112.0
+50	49	50	98.0
2 незбагачений	0.7	-	-
+1.0	1.5	1.7	88.2
+5.0	6.6	5.7	115.8
+50	53	50.7	104.5
3 незбагачений	1.0	-	-
+1.0	1.7	2.0	85.0
+5.0	6.8	6.0	113.3
+50	48.8	51	95.7

## ЛІНІЙНІСТЬ

Три зразки сироватки пацієнтів розбавляли стандартом А. Результати (в нг / мл) наведені нижче:

Зразок	Спостерігаємий результат	Очікуваний результат	Відновлення %
1	6.44	-	-
1:2	3.12	3.22	96.9
1:5	1.15	1.29	89.1
1:10	0.59	0.64	92.2
2	16.60	-	-
1:2	7.97	8.30	96.0
1:5	2.82	3.32	84.9
1:10	1.59	1.66	95.8
3	33.00	-	-
1:2	16	16.5	97.0
1:5	6.4	6.6	97.0
1:10	3.3	3.3	100.0

## ВИСОКОЇ ДОЗИ ХУК ЕФЕКТ

Прямий набір hGH ІФА не зазнав жодного крюк ефекту високої дози.

## ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Що стосується всіх клінічних аналізів, кожна лабораторія повинна збирати дані та встановлювати власний діапазон очікуваних нормальних значень.

група	кількість	95 % довірчий діапазон (нг/мл)
чоловіки	120	НВ-3.7
Жінки		
Пременопауза	120	НВ-8.71
постменопауза	120	НВ-3.09

## ЛІТЕРАТУРА

1. Beck P, et al. Correlative Studies of Growth Hormone and Insulin Plasma Concentrations With Metabolic Abnormalities in Acromegaly. *J Lab Clin Med.* 1965; 66(3):366–79.
2. Chochinov RH, Daughaday WH. Current Concepts of Somatomedin and Other Biologically Related Growth Factors. *Diabetes.* 1976; 25(10):994–1004.
3. Chawla RK, Parks JS, Rudman D. Structural Variants of Human Growth Hormone: Biochemical, Genetic, and Clinical Aspects. *Ann Rev Med.* 1983; 34:519–47.
4. Celniker AC, et al. Variability in the Quantitation of Circulating Growth Hormone Using Commercial Immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989; 68(2):469–76.
5. Daughaday WM, Cryer PE. Growth Hormone Hypersecretion and Acromegaly. *Hosp Pract.* 1978 Aug; 13(8):75–80.
6. Engvall E. Enzyme Immunoassay IFA and EMIT. *Methods Enzymol.* 1980; 70(A):419–39.
7. Eddy R L, et al. Human Growth Hormone Release. Comparison of Provocative Test Procedures. *Am J Med.* 1974; 56(2):179–85.
8. Frasier SD. A Preview of Growth Hormone Stimulation Tests in Children. *Pediatrics.* 1974; 53(6):929–37.
9. Goldfine ID. Medical Treatment of Acromegaly. *Ann Rev Med.* 1978; 29:407–15.

### Умовні позначення:

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо для <N> випробувань
 Дата закінчення терміну придатності	<b>LOT</b> Код партії	<b>IVD</b> Тільки для ін вітро діагностики в лабораторних умовах!
 Звертайтеся до інструкції по експлуатації	<b>CONT</b> зміст	<b>CE</b> Маркування
 Обережно	<b>REF</b> Каталогний номер	