

PATHOZYME[®] HUMAN GROWTH HORMONE Ref OD437

Test ImunoEnzimatic EIA pentru determinarea cantitativă

a hGH în serul uman.

Depozitați la 2°C - 8°C . NU CONGELAȚI.

Doar pentru diagnostic in-vitro.

INTRODUCERE

Hormonul Uman de Creștere (hGH, somatotropina), este un polipeptid secretat de hipofiza anterioară. Este alcătuit din 191 amino-acizi și are o masă moleculară de aproximativ de 22.000 de Daltoni. Efectele metabolice sunt în principal anabolice. hGH determină conservarea proteinelor și este implicat într-o varietate de mecanisme de sinteză proteică. Stimulează de asemenea transportul glucozei și ușurează depozitarea glicogenului. Cascada de acțiuni de stimulare a creșterii este mediată de o altă familie de hormoni peptidici, somatomedinele. Măsurarea hGH este de interes în primul rând în diagnosticul și tratamentul diferitelor forme de secreție anormală a hormonului de creștere. Anomaliile cauzate de hiposecreție include nanismul și ne-atingerea potențialului de creștere; hipersecreția este asociată cu gigantismul și acromegalia.

Trebuie avută grijă în interpretarea clinică a nivelurilor de hormon de creștere. Acestea variază în cursul zilei, făcând dificilă definirea unui domeniu normal evaluarea stării unui individ pleclin din la o singură determinare. Sunt recunoscuți mulți factori care influențează rata secreției hormonului de creștere, incluzând aici perioadele de somn, efortul fizic, stresul, hipoglicemia, estrogenii, corticosteroidii și L-dopa. Din cauza asemănărilor sale cu prolactina și lactogenul placentar, testele imunologice anterioare aveau adesea false valori mari la gravide și la femeile în perioada de lactație.

Deoarece nu toți indivizii cu acromegalia au niveluri de bază crescute ale hormonului de creștere, testele de supresie bazate pe încărcarea cu glucoză au valoare în acest context. În ciuda hiperglicemiei induse, există rareori o scădere a nivelurilor de bază în acromegalia.

Indivizii cu deficiență de hormon de creștere au niveluri de repaus și de post similare cu cele ale indivizilor normali. Au fost realizate diferite teste de provocare pentru a-i identifica. De exemplu, odată cu instalarea somnului profund sau după 15-20 de minute de efort viguros, nivelurile hormonului de creștere, în mod normal încep să crească. Alte teste pentru răspunsul hormonului de creștere se bazează pe administrarea de L-dopa, arginină sau insulină. Propranololul sau estrogenul sunt administrate uneori în conjuncție cu stimulul primar pentru a accentua răspunsul hormonal.

S-a raportat un număr mic de cazuri de nanism la care atât nivelul bazal de hGH și răspunsul la testarea de provocare sunt normale. Asemenea cazuri pot presupune rezistență țesuturilor la hormonul de creștere sau la somatomedine sau un hormon de creștere imunoreactiv dar biologic inactiv.

Testul PATHOZYME hGH este un test rapid, sensibil și fiabil. Nu există reactivitate încrucișată cu hCG, TSH, LH și Prolactină.

UTILIZARE

PATHOZYME hGH este un test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a hormonului de creștere uman (hGH) în serul uman.

A fi folosit doar de personalul medical.

PRINCIPIUL TESTULUI

Anticorpi specifici de oaie anti-hGH sunt fixați în godeurile de microtitrare. Se aplică serul de testat. Apoi se adaugă un anticorp monoclonal anti-hGH marcat cu peroxidază din hrean (Conjugat). Dacă în probă este prezent hGH uman, se va combina cu anticorpii fixați de godeu și conjugatul enzimatic, dând naștere unor "sandwich-uri" de molecule hGH flancate de anticorpii de fază solidă și de cei legați de enzimă. După incubarea la temperatura camerei, godeurile sunt spălate cu apă distilată pentru a îndepărta anticorpii marcați nelegați. După adăugarea substratului (TMB) se vor colora doar acele godeuri în care enzima este prezentă, ceea ce indică prezența hGH.

Reacția este oprită de adăugarea de Acid Clorhidric diluat, după care absorbția este măsurată la 450nm. Concentrația de hGH este direct proporțională cu intensitatea culorii din proba testată.

Testul a fost calibrat cu Preparatul de Referință OMS I pentru hGH 65/217.

CONȚINUT

Ref
OD437



Microtitre Plate				12 x 8 godeuri x 1			
Cal	A	0ng/ml		1 ml			
Standard Referință: Ser uman fără hGH. Gata de lucru. (Incolor)							
Cal	B	2.5ng/ml		1 ml			
Standard Referință: hGH diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)							
Cal	C	5ng/ml		1 ml			
Standard Referință: hGH diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)							
Cal	D	10ng/ml		1 ml			
Standard Referință: hGH diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)							
Cal	E	25ng/ml		1 ml			
Standard Referință: hGH diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)							
Cal	F	50ng/ml		1 ml			
Standard Referință: hGH diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)							
Conj				11 ml			
Conjugat Anti-hGH HRP: Anti-hGH conjugat de peroxidază hrean. Gata de lucru. (Roz)							
Subs				TMB	11ml		
Soluție substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)							
Soln				Stop	HCl	1M	11ml
Soluție Stopare: Acid clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (Incolor)							

Broșură instrucțiuni și Fișa de înregistrare date EIA 1 + 1

MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100ul, 200ul și 1000ul
Virfuri de pipetă de unică folosință
Hîrtie absorbantă
Cititor de microplăci cu filtru de 450nm
Hîrtie milimetrică
Sticlărie de laborator foarte curată.

PRECAUȚIUNI

PATHOZYME hGH conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV I și II și pentru HbsAg, la nivel de donor unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o garanție completă că produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atât în timpul utilizării cât și sunt deșeurii. Nu ingerați.

Reactivii PATHOZYME hGH nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic atât cînd sunt folosite cât și cînd sunt deșeurii. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare PATHOZYME hGH este acid clorhidric diluat și este deci corozivă. Manipulați cu grijă. În caz de contact cu tegumentul spălați cu apă și apă.

Reactivii PATHOZYME hGH conțin Proclin™ 300* în concentrație de 1% ca și conservant. Este toxică atunci cînd este ingerată. În caz de contact, spălați bine cu apă de la robinet și consultați un medic.

* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată a ROHM & HAAS Limited.

DEPOZITARE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată pînă la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV (cu excepția depozitării standardelor) deoarece acesta va fi iremediabil alterat.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Recoltați o probă de sînge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sînge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt.

Nu folosiți pentru testare ser hemolizat, contaminat sau lipemic deoarece aceasta va influența nedorit rezultatele.

Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de 1 an. Probele decongelate trebuie amestecate bine înainte de a fi utilizate.

Nu folosiți ca și conservant Azida sodică deoarece aceasta va inhiba sistemul enzimatic Peroxidază.

Nu congelați-decongelați în mod repetat probele - veți obține rezultate false.

PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor pentru a resuspenda latex-ul înainte de utilizare. Evitați formarea spumei.

LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor tipuri de probe, altele decît serul nu a fost validată pentru acest test. Nu există protocol de reutilizare pentru acest produs.

Atunci cînd faceți interpretarea testului este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie să fie stabilit doar pe baza rezultatelor unui singur test clinic.

PROCEDURA DE TESTARE

1. Aduceți toate componentele kit-ului și serul de testat la temperatura camerei (20°C-25°C) înainte de a începe testarea.
2. Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare procesare de probe. Fixați numărul dorit de godeuri în stativ. Înregistrați poziția standardelor și a serului de testat pe Fișa de Înregistrare a Datelor EIA.
3. Stripurile nefolosite trebuie resigilate în punga de folie conținând desicant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
4. Pipetați 50μl de Standarde și de ser de testat în godeurile stabilite.
5. Pipetați 100μl de Conjugat Anti-hGH HRP în fiecare godeu. Amestecați viguros timp de 30 de secunde.
6. Incubați placa timp de 45 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
7. La sfârșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșeuri cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hirtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeuri să se afle un dezinfectant corespunzător.
8. Spălare Manuală. Umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu. Întoarceți brusc placa deasupra recipientului de deșeuri biologice. Loviți placa de hirtie absorbantă.
9. Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
10. Spălare Automată: controlați ca 300μl de apă distilată să fie pipetați în fiecare godeu și ca în recipientul cu deșeuri este adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile de 5 ori. După ce spălați, îndepărtați excesul de lichid lovind placa inversată de o hirtie absorbantă.
11. Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 5 secunde.
12. Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
13. Opriți reacția adăugând 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu.
14. Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă a culorii albastre în galben.
15. Citiți imediat densitatea optică (până în 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucișată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece se poate produce contaminare.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20° - 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blinde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

CALCULAREA REZULTATELOR

Calculați valoarea absorbantei medii (A_{550}) pentru fiecare set de standarde și probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbanta medie pentru fiecare Standard în funcție de concentrația în ng/ml pe hirtie milimetrică, cu valorile absorbantei pe axa Y și concentrațiile pe axa X.

Folosiți valorile absorbantei medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de hGH în ng/ml din curba standard.

Dacă nivelurile controalelor sau ale probelor cu valori cunoscute nu dau rezultatele scontate, rezultatele testului trebuie considerate invalide.

Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Graficul produs de calibratori trebuie să aibă o formă hiperbolică cu densitatea optică (DO) citită la 450 nm proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mică de 0,75 iar DO a calibratorului F mai mare de 1,5 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Fiecare laborator trebuie să stabilească propriul domeniu de valori normale plecînd de la propria populație de pacienți. Un domeniu normal pentru nivelurile hormonului de creștere uman este dificil de definit din cauza fluctuațiilor fiziologice normale ale concentrației hGH. La cei mai mulți subiecți adulți în repaus, pe stomacul gol, nivelul de hGH în ser este de 7ng/ml sau mai mic. Modificările hGH ca răspuns la diferiți stimuli oferă o evaluare mai precisă a disfuncției hipofizare însă necesită teste de provocare, stimulare sau supresie.

Concentrația minim detectabilă de hGH cu PATHOZYME hGH este de 0,5 ng/ml.

DATE DE EVALUARE

Rezultate calibrate cu competitori importanți și cu standarde interne.
Coeficientul de variație al PATHOZYME hGH este mai mic sau egal cu 10%.

La o evaluare a unor probe pozitive cu kit-ul PATHOZYME hGH produs de Omega și testul HGH Nicols Allegro folosind probe cu niveluri cuprinse între 0,5 ng/ml și 26,7 ng/ml au fost generate următoarele date.

Număr de probe	134
Coeficient de corelație	0.985
Pantă	0.860
Intercept	0.119
Medie Omega	1.78 ng/ml
Medie Nichols	1.65 ng/ml

Între kit-uri există o bună corelație.

BIBLIOGRAFIE

1. Van Wyk, J. J. and Underwood, L. E. Growth Hormone Somatomedins and Growth Failure. *Hospital Practice* 13:57:1978.
2. Fisher, D. A. Evaluation of Anterior Pituitary Function in *Radioimmunoassay Manual* Ed. Nicholas, A.L. and Nelson, J.C.P. 3498 Nichols Institute, 1977.
3. Goldfine, I. D. Medical Treatment of Acromegaly. *Annual Review of Medicine* 29:407:1978.
4. Reichlin, S. et al. Hypothalamic Hormones. *Annual Review of Medicine* 29:359:1976.
5. Rimoin, D.L. and Horton, W. A. Short Stature. *J. Paediatrics* 92:523:1978.

GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

1. Pipetați 50μl de Standard sau ser de testat și 100μl de Conjugat Anti-hGH HRP în fiecare godeu și apoi amestecați bine timp de 30 de secunde.
2. Incubați timp de 45 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C)
3. Aruncați conținutul godeurilor și spălați de cinci ori cu apă distilată.
4. Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați bine timp de 5 secunde.
5. Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C)
6. Adăugați 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 30 de secunde.
7. Citiți imediat (nu mai tîrziu de 10 minute) densitatea optică folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

8093 ISSUE 4 Revised July 2010 ROMANIAN
© Omega Diagnostics Ltd., 2010



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY