

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГОРМОНА РОСТА ЧЕЛОВЕКА (HGH)

## 1901-16, Human Growth Hormone (HGH)

Каталог. № : 1901-16  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 10-01-2013



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Анализ	<b>Human Growth Hormone ELISA</b>
Метод	<b>Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов</b>
Принцип	<b>Сендвич-комплекс</b>
Диапазон обнаружения	<b>0-30 нг/мл</b>
Образец	<b>50 мкл сыворотки</b>
Специфичность	<b>96 %</b>
Чувствительность	<b>1.0 нг/мл</b>
Общее время	<b>~ 80 мин.</b>
Срок годности	<b>12-14 месяцев от даты производства</b>

### НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для количественного определения концентрации человеческого гормона роста (HGH) в сыворотке человека.

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Количественный анализ HGH основывается на принципе ИФА (ферменто-связанный иммуносорбентный анализ). Система использует анти-HGH антитела овцы для иммобилизации на твердой фазе (микротитрационные лунки) и мышинные моноклональные анти-HGH антитела в растворе конъюгата антитело-энзим (пероксидаза). Анализируемый образец одновременно реагирует с антителами, что приводит к освобождению молекул HGH, которые находятся между твердой фазой и энзимосвязанными антителами. После 60-минутной инкубации при комнатной температуре лунки с целью удаления несвязанных антител промываются водой. Добавляется реагент ТМБ и инкубируется еще 20 минут, что дает образование голубого цвета, которое останавливается добавлением стоп раствора, после чего образуется желтый цвет и производится измерение на спектрофотометре при длине волны 450 нм. Концентрация HGH прямо пропорциональна интенсивности цвета анализируемого образца.

### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотку получают из проб цельной крови, взятых подходящим способом. Набор предназначен для работы с образцами сыворотки без примесей.

### МАТЕРИАЛЫ И КОМПОНЕНТЫ

**Материалы, входящие в состав набора:**

1. Микротитровальный планшет с лунками, покрытыми антителами.
2. Набор референтных стандартов, включающих 0; 1,0, 2,5, 7,5, 15 и 30 нг/мл HGH, жидкие, готовые к использованию.
3. Ферментный конъюгат, 12 мл.
4. Субстрат ТМБ, 12 мл.
5. Стоп-раствор, 12 мл.
6. Концентрат промывочного буфера (50x), 15 мл.

**Материалы, не входящие в состав поставки:**

1. Точные пипетки: 0,05, 0,1, 0,2 и 1,0 мл.
2. Одноразовые наконечники для пипеток.
3. Дистиллированная вода.
4. Вихревой смеситель или аналог.
5. Промокательная бумага или бумажное полотенце.
6. Бумага для построения графиков.
7. Микролуночный планшет-ридер.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-22°C).
2. Разбавьте 1 часть промывочного буфера (50x) 49 частями дистиллированной воды. Например, разбавьте 15 мл концентрата промывочного буфера (50x) в дистиллированной воде, чтобы приготовить 750 мл промывочного буфера (1x). Перед использованием хорошо перемешайте.

### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Поместите нужное количество лунок с антителами.
2. Внесите **50 мкл** стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите **100 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешайте содержимое лунок в течении **30 секунд**. Важно добиться полного перемешивания.
5. Инкубируйте пробы при комнатной температуре (18-22°C) в течении **60 мин**.
6. Удалите инкубационную смесь вытряхнува содержимое планшета в контейнер для отходов.
7. Промыть лунки промывочным буфером (1x) водой **5 раз**.
8. Перевернуть планшет и легко постучать им по расстеленному листу промокательной бумаги или бумажного полотенца для удаления остатков жидкости.
9. Внесите **100 мкл** раствора ТМБ в каждую лунку. Аккуратно перемешайте в течении 5 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в темном месте в течении **20 минут**.
11. Остановите реакцию внесением **100 мкл** стоп раствора в каждую лунку.
12. Аккуратно перемешайте пробы на протяжении **30 секунд**. **Очень важно убедиться, что весь голубой цвет стал желтым.**
13. Используя ридер для планшетов, измерьте оптическую плотность лунок при **450 нм** на протяжении **30 мин**.

**Важное замечание:**

Процедура промывания – крайне важна. Недостаточное промывание может привести к неточным результатам.

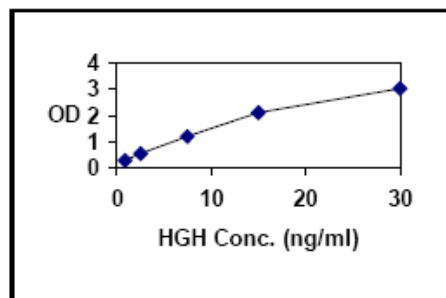
### РАСЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассчитать средние значения поглощения ( $A_{450}$ ) для каждого стандарта, контрольных сывороток и образцов. На бумаге для графиков построить калибровочную кривую, откладывая на вертикальной оси (Y) значение поглощения для каждого стандарта против его концентрации в нг/мл на горизонтальной оси (X). С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию HGH в нг/мл.

### ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают со считыванием оптической плотности при 450 нм на оси Y по отношению к концентрациям HGH на оси X. Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен только в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета неизвестных значений. Каждый пользователь должен получить свои собственные данные и калибровочную кривую.

HGH (нг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0,0	0,052
1,0	0,253
2,5	0,501
7,5	1,158
15,0	2,075
30,0	3,025



## ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Каждая лаборатория должна установить свои собственные границы значений, базируемые на популяции пациентов. Нормальные границы концентрации HGH тяжело определить в связи с физиологическими ее колебаниями. У большинства взрослых в покое, после ночного сна HGH-уровень в сыворотке приближается к 7 нг/мл. Колебания его концентрации в ответ на различные стимулы дает более точное представление о питуитарной дисфункции. Для подтверждения диагноза необходимо проведение провокационных проб со стимуляцией или угнетением.

Минимальная чувствительность анализа **0,5 нг/мл**.

## РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**I. Достоверность:** сравнение между нашим тестом и коммерчески доступным тестом предоставило следующие данные:

N = 134  
Коэффициент корреляции = 0.92  
Наклон = 1.065  
Пересечение = -0.129  
Среднее (наши наборы) = 2.22  
Среднее (Abbott) = 1.96

## II. Точность:

### 1) Внутрисерийная:

Концентрации	N	Среднее	SD	CV, %
Уровень 1	20	4.61	0.26	5.74
Уровень 2	20	9.81	0.74	7.58
Уровень 3	20	26.07	2.44	9.35

### 2) Между сериями:

Концентрации	N	Среднее	SD	CV, %
Уровень 1	20	4.75	0.56	11.86
Уровень 2	20	9.86	1.25	12.67
Уровень 3	20	25.84	2.93	1.35

## III. Линейность:

Две сыворотки пациента с серийно разводили Стандартом 0 Ед/мл в линейном исследовании. Среднее восстановление составило 101.9 %.

Образец А			
Разведение	Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
Неразбавленный	25.26	25.26	
2X	12.63	11.67	92.4
4X	6.30	6.18	98.1
8X	3.16	3.24	102.5
16X	1.58	1.67	105.7
Среднее восстановление: 99.7 %			

Образец В			
Разведение	Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
Неразбавленный	19.97	19.97	
2X	9.98	9.65	98.6
4X	4.99	5.01	99.6
8X	2.49	2.70	108.2
16X	1.25	1.37	109.6
Среднее восстановление: 97.2 %			

## IV. Восстановление

Различные образцы сыворотки с известным уровнем пролактина смешивались и анализировались в дубликатах. Среднее восстановление составило 101.8 %.

Ожидаемое значение	Полученное значение	Восстановление, %
1.32	1.24	94.3
1.89	1.88	99.5
2.75	2.80	101.8
5.47	5.19	94.9
9.62	10.81	112.4
18.73	20.23	108.0
Среднее восстановление: 101.8 %		

## V. Чувствительность

Минимальная определяемая концентрация этого анализа составляет 1.0 нг/мл.

## VI. Перекрестная реактивность

Следующие материалы человеческого происхождения были проанализированы, чтобы определить возможные реактивности.

Antigens	Concentration	Equivalent HGH	% Cross-Reactivity
HCG	500,000 mIU/ml	0.0 mIU/ml	0.0
LH	500 mIU/ml	0.0 mIU/ml	0.0
TSH	500 µIU/ml	0.0 mIU/ml	0.0
FSH	500 mIU/ml	0.0 mIU/ml	0.0
Prolactin	500 ng/ml	0.5 mIU/ml	0.1

## VII. Хук-эффект

Хук-эффект не наблюдался при концентрациях 500.0 нг/мл HGH.

## ХРАНЕНИЕ НАБОРА

Невыскранный набор следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Вскрытый набор останется стабильным до конца срока годности, если он сохраняется как описано выше. Вскрытые наборы остаются стабильными до окончания срока пригодности при хранении согласно инструкции. Подходящим является микропланшетный считыватель с шириной дорожки 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»  
ул. Чорновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)