

hGH [¹²⁵I] IRMA készlet (REF: RK-5CT)

A hGH [¹²⁵I] IRMA készlet humán szérumban növekedési hormon (hGH) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 100 µIU/ml mérési tartományban.

Bevezetés

A hGH (human növekedési hormon) kb. 22000-es molekulatömegű polipeptid hormon, amelyet az agyalapi mirigy sejteje választanak ki.

A molekula szerkezete hasonló a humán prolaktinéhoz (hPRL) és a humán placentáris laktogénéhoz (hPL). A növekedési hormon szekréció kettős szabályozás alatt áll. A hipotalamusz meghatározott neuronjaiban termelődik a növekedési hormon szekrécióját serkentő hormon (GH-RH) és az azt gátló szomatostatint (GH-RIH). A növekedési hormon fajspecifikus, az állatok által termelt GH az emberre hatástalan. A hGH gyorsan metabolizálódik, a felezési idő normál egyedeknél 20-30 perc.

A keringési szint a korrallal változik, az élet első két hónapjában magasabb, mint később. A növekedési hormonnak számos hatása ismert. Nemcsak a proteinszintézist és a csontváz, izmok, a zsigerek növekedését szabályozza, hanem lipolitikus és laktogén hatása is van, valamint befolyásolja a glikogén májban történő raktározását. A klinikai gyakorlatban jól ismert a növekedési hormon diabetogén hatása is.

A hGH felszabadulása szakaszos. Fiziológiai körülmények között a hormonszekréció napszaki ingadozást mutat, az alvási időszak alatt epizódikus hormonkiáramlás figyelhető meg. Egyszeri szérumban hGH koncentráció meghatározás nem tükrözi megfelelően az endogén hGH szekréciót. Az emberek kb. 50%-ának a hGH szintje extrém alacsony, néha nem is mérhető, ezért csak a provokációs tesztek alkalmazása ad kielégítő eredményt.

A hGH mérése széles körben alkalmazható a klinikai gyakorlatban a hipó- és hiperszekréció megállapítására.

A mérés elve

A mérőkészlet a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) működési elvét alkalmazza. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitopját ismerik fel. A két antitest egyike radiojóddal jelzett (jelző antitest), a másikuk jelöletlen (ún. "capture" antitest).

A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. 2 órás reakcióidő követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsőekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő hormon koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs

görbéről az ismeretlen minták koncentrációit kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

A készlet tartalma

- 1 flakon ¹²⁵I-TRACER (21 ml), puffertes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz
- 6 üveg STANDARD, liofilizált, 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, rekonstituálható 1 ml desztillált vízzel. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 0,3 ; 1,3 ; 5,5 ; 23; 100 µIU/ml. WHO 1st IS 88/624-re kalibrálva.
- 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM, liofilizált, 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, rekonstituálható 1 ml desztillált vízzel. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban
- MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, 700 ml desztillált vízzel hígítandó.
1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben; pipetták (50, 200 µl és 2 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadékedénnyel, 2 ml adagolási térfogatra

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben az GH meghatározás a mintavételt követően 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumban ne használjunk mérésre.

A reagensek előkészítése, tárolása

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 700 ml desztillált vízhez. A hígított mosóoldatot 2-8°C -on tároljuk a készlet lejárataig.

A liofilizált standardokat és az ellenőrző szérumban rekonstituáljuk 1 ml desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot 20 percig még ne használjuk fel. A rekonstituált oldatok -20°C-on a készlet lejárataig tárolhatók.

A készlet többi komponense az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolhatóak a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két -két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérumban (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 50 µl STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMOT, és szérumban a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csöve 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten.
5. Adjunk minden csövhöz 2 ml mosópuffert, majd a csőtartót fejfelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
6. Ismételjük meg a mosási lépést kétszer, a 5.pontnak megfelelően.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1.Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	C	M
Standard		50		
Ell. szérumban			50	
Minta				50
Tracer	200	200	200	200
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

Az eredmények számítása

A számítás menetét jellemző mérési adatokkal szemléltetjük. A kapott számadatoknak, és a kalibrációs görbének hasonlítaniuk kell a 2. táblázathoz, illetve az 1. ábrához.

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Log-log papíron ábrázoljuk a standard koncentrációkhoz tartozó átlag cpm értékeket. Olvassuk le a mérendő minták koncentrációit a standard görbéről az átlag cpm értékek alapján.

Egyes adat-kiértékelésekhez, rendszerint minőségellenőrzési célból, szükség lehet a specifikus kötési értékekre. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az S1 beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

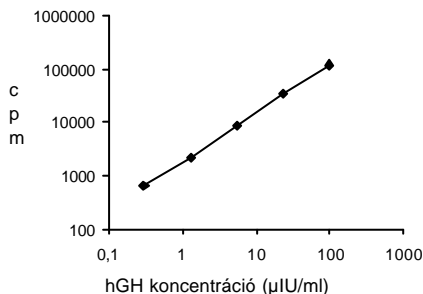
$$B/T (\%) = \frac{S2-6/Mx / (cpm) - S1(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez speciálisan immunometrikus assayre kifejlesztett spline illesztő program használatát javasoljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valósak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenységi).

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/T%
T	292831 290613	291722	-
S1	109 126	118	0,04
S2	643 602	622	0,21
S3	2165 2163	2164	0,73
S4	8914 8861	8887	3,00
S5	35221 33069	34145	11,56
S6	124766 117131	120949	41,00
C	11139 10670	10905	3,75



1. ábra
Tipikus standard görbe, (Mintameghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

B_{max}/B_0 >600
NSB <0,06%

Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestekkel tapasztalható keresztreakció : hPL 0,2% és hPRL 1,0%.

Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 20 párhuzamos mérésből meghatározva < 0,04 µIU/ml. Értéke egyenlő a 0-standard B_0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamosan, 20 független mérésben értékelve, 4 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (µIU/ml)	CV %	átlag (µIU/ml)	CV %
1,4	3,5	0,05	17,9
5,1	1,0	1,4	3,3
11,0	1,5	5,3	2,0
54,8	1,5	53,9	2,5

Várható referens tartomány

Egészséges felnőtt: 0 - 14 µIU/ml

A megadott referens tartomány csak tájékoztató adatnak tekintendő, és nem helyettesítheti a készletet felhasználó laboratóriumok saját területükre jellemző normálértékének megállapítását.

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közöséges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet! Ennek elkerülésére a műanyag dobozból soha ne vegyünk ki többet a szükséges mennyiségnél, illetve a felhasználatlan kémcsöveket azonnal tegyük vissza eredeti tartódobozukba. Ha az összekeverés veszélye a feldolgozás alatt is fennáll, célszerű a bevont csöveket más módon is megjelölni (pl. üvegre író tollal "meggyuruzni").

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsótartó használható, amelyben a csövek rögzítve vannak. "Lötyögős" állványban a kémcsövek tartalma egyáltalán nem, vagy egyenetlenül keveredik, annak ellenére, hogy maga az állvány, és a kémcső mozgásban van. Egyenetlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis (fals alacsony!) mérési eredményekhez vezethet!

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerből adagolható, amelyhez legalább 1 l-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölött végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kellemes nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlődő pipetta használható.

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó GH készletének komponenseivel.

Biztonsági óvrendszabályok

Radioaktivitás

A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során ill. a védőcsomagolás esetleges sérülése esetén a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére










vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

Fertőzésveszély

A készletben lévő humán szérumot tartalmazó komponensek elooltásához felhasznált szérum HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumot tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 250 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

	Lejáratási idő	CONTROL	Kontrol
	Gyártási szám	CAL	Standard
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CT	Bevont cső
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás	WASHB	Mosópuffer
	In vitro diagnosztikai eszköz		2-8°C-on tárolandó
	Gyártó		
REF	Katalógus szám		
	Radioaktív anyag		



WEB oldal: <http://www.izotop.hu>

Technikai e-mail: immuno@izotop.hu

Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP
IZOTÓP INTÉZET Kft.
1535 Budapest, Pf.: 851.
Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247