

hGH [I-125] 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 (humán növekedési hormon) kb. 22000-es molekulatömegű polipeptid hormon, amelyet az agyalapi mirigy sejtei választanak ki.

A molekula szerkezete hasonló a humán prolaktinéhoz (hPRL) és a humán placentalis 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 szomatostatin (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 zsigerik 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 hipo- 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 reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsövekben 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), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz
- 6 üveg STANDARD, liofilizált, 0,1 % NaN₃ tartósítóval, rekonstituálandó 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 ELLENŐRZŐ SZÉRUM, liofilizált, 0,1 % NaN₃ tartósítóval, rekonstituálandó 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), 0,2 % nátrium-azid tartósítóval, 700 ml desztillált vízzel hígítandó.
1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörögzőtő kiképzésben; pipetták (50, 200 µl és 2 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzározó 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 követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk (felhasználható: max. 4 hónapig). 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 lejáratiáig.

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 lejáratiáig 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)

- Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérum (C); vizsgálandó minták (M).

- Mérjük 50 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérumban a megfelelő csövekbe.
- Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
- Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Keveressük 2 órán át szobahőmérsékleten.
- Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülzúrt, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
- Ismételjük meg a mosási lépést kétszer, az 5.pontnak megfelelően.
- 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. szérum			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:

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

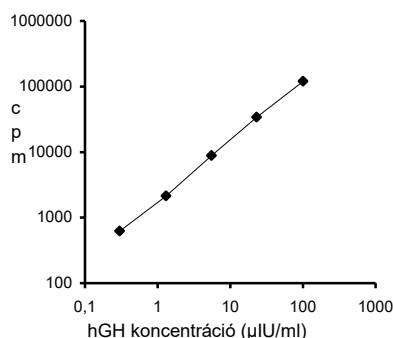
Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") 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. érzékenység).

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, (Minta meghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Specifititás

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 B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 15 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

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

A mérés során 10 db humán szérumból különböző koncentrációban és vizsgáltuk a kiindulási és a megemelkedett koncentráció szinteket. A visszanyerés 92,2 – 104,4% volt.

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 5000 µIU/ml alatt nem jelentkezik.

Várható referens tartomány

	Nők	Férfiak
Minták száma	100	100
Átlag (µIU/ml)	5.68	0.94
Medián (µIU/ml)	1.03	0.17
Minták 95%-a (µIU/ml)	0 – 30	0 – 6

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. Közösítéses 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 "meggyűrűzni").

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsőtartó 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. Egyetlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis (fals alacsony!) mérési eredményekhez vezethet!

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerekből 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 kellően nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlő pipetta használható.

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó hGH 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 szérumból** tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumból HIV-Ab, HBsAg, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumból tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

A szarvasmarhából származó komponensek olyan országokból származnak, amelyekben szivacsos szarvasmarha agyvelőgyulladásos eseteket nem regisztráltak. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reagenseket **potenciálisan fertőzőként kell kezelni!**

Mérgező anyagok

A készlet komponensei közül néhány tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz. A készlet összes nátrium-azid tartalma 68 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.

	Lejárat 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: mailto:immuno@izotop.hu

Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP

IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247

Felülvizsgálva: 2021.Március



Melléklet az RK-5CT hGH [I-125] IRMA készlethez

Gyermek normál tartomány ($\mu\text{U/mL}$)

Fiú

Korcsoport	Minták	Medián	Minimum	Maximum
3-4 év	40	1,86	0,19	16,0
5-6 év	40	0,87	0,16	23,6
7-8 év	37	0,75	0,08	38,7
9-10 év	35	0,64	0,04	31,5
11-12 év	34	0,47	0,07	19,1
13-14 év	31	0,78	0,12	38,7
15-16 év	28	0,39	0,13	28,7
17-18 év	31	0,37	0,08	38,7

Fiúk (pubertás kor előtt) (3-14 év)

Minták	Medián	Minták 97%-a
217	0,84	0,04 - 28

Fiúk (pubertás kor) (15-18 év)

Minták	Medián	Minták 97%-a
59	0,37	0,08 - 28

Lány

Korcsoport	Minták	Medián	Minimum	Maximum
3-4 év	27	1,98	0,33	17,5
5-6 év	30	1,3	0,19	28,0
7-8 év	33	0,66	0,05	20,7
9-10 év	34	0,71	0,1	17,2
11-12 év	36	1,03	0,18	36,7
13-14 év	39	0,68	0,16	21,6
15-16 év	41	3,65	0,15	41,2
17-18 év	37	3,56	0,19	41,5

Lányok (pubertás kor előtt) (3-14 év)

Minták	Medián	Minták 97%-a
199	0,95	0,05 - 20

Lányok (pubertás kor) (15-18 év)

Samples	Median	Minták 97%-a
78	3,61	0,15 - 40



Melléklet az RK-5CT hGH [I-125] IRMA készlethez

Gyermek normál tartomány (ng/mL)

Fiúk

Korcsoport	Minták	Medián	Minimum	Maximum
3-4 év	40	0,61	0,06	5,3
5-6 év	40	0,29	0,05	7,8
7-8 év	37	0,25	0,03	12,8
9-10 év	35	0,21	0,01	10,4
11-12 év	34	0,16	0,02	6,3
13-14 év	31	0,26	0,04	12,8
15-16 év	28	0,13	0,04	9,5
17-18 év	31	0,12	0,03	12,8

Lányok

Korcsoport	Minták	Medián	Minimum	Maximum
3-4 év	27	0,65	0,11	5,8
5-6 év	30	0,43	0,06	9,2
7-8 év	33	0,22	0,02	6,8
9-10 év	34	0,23	0,03	5,7
11-12 év	36	0,34	0,06	12,1
13-14 év	39	0,22	0,05	7,1
15-16 év	41	1,20	0,05	13,6
17-18 év	37	1,17	0,06	13,7

Fiúk (pubertás kor előtt) (3-14 év)

Minták	Medián	Minták 97%-a
217	0,28	0,01 - 10

Lányok (pubertás kor előtt) (3-14 év)

Minták	Medián	Minták 97%-a
199	0,31	0,02 - 7

Fiúk (pubertás kor) (15-18 év)

Minták	Medián	Minták 97%-a
59	0,12	0,03 - 10

Lányok (pubertás kor) (15-18 év)

Minták	Medián	Minták 97%-a
78	1,19	0,05 - 14