



Набор ИФА для определения ГОРМОНА РОСТА ЧЕЛОВЕКА (ГРЧ)

Кат. № : EIA-1787
Количество тестов : 96
Производитель : DRG (США)

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

Методика от 23-05-2005

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для количественного определения концентрации человеческого гормона роста в сыворотке.

Только для диагностического использования in vitro.

Хранить при 2-8°C.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Количественный тест ГРЧ базируется на принципе ИФА (реакция ферментосвязанной иммуносорбции на твердой фазе). Система использует анти-ГРЧ антитела овцы для иммобилизации в твердой фазе (микротитрационные лунки) и мышиные моноклональные анти-ГРЧ антитела в растворе конъюгата антитело-фермент (пероксидаза). Тестируемый образец одновременно реагирует с антителами, что приводит к освобождению молекул ГРЧ, которые находятся между твердой фазой и ферментосвязанными антителами. После 45-минутной инкубации при комнатной температуре лунки с целью удаления несвязанных антител промываются водой. Добавляется реагент ТМВ 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 ГРЧ прямо пропорциональна интенсивности цвета исследуемого образца.

РЕАГЕНТЫ

Материалы, входящие в состав набора:

- Планшет с лунками, покрытыми анти-ГРЧ антителами овцы, 96 лунок.
- Набор референтных стандартов, включающих 0; 2,5; 5; 10; 25 и 50 нг/мл ГРЧ, лиофилизированные.
- Реагент ферментного конъюгата, 13 мл.
- Реагент ТМВ, 11 мл.
- Стоп раствор (1N HCl), 11 мл.

Материалы, не входящие в состав поставки:

- Точные пипетки: 50, 100 мкл и 1,0 мл.
- Дистиллированная вода.
- Сменные наконечники для пипеток.
- Вихревой смеситель или аналог.
- Промокательная бумага или бумажное полотенце.
- Ридер для планшетов с шириной дорожки 10 мм или менее и диапазоном оптической плотности 0-2 OD или более при длине волны 450 нм.
- Бумага для построения графиков.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

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

ХРАНЕНИЕ НАБОРА и ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Невыскранные наборы следует хранить при 2-8°C, а планшет – в закрытой упаковке с влагопоглотителем до конца срока годности. Выскранные наборы остаются стабильными до конца срока годности при соблюдении правил хранения, описанных выше.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием доведите реагенты до комнатной температуры (18-25°C).

2. Растворите каждый лиофилизированный стандарт 1,0 мл дистиллированной воды. Оставьте растворенный материал на 20 минут и хорошо смешайте. Растворенные стандарты остаются стабильными на протяжении 30 дней, если будут храниться в запечатанном виде при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите в держателе нужное количество покрытых антителами лунок.
2. Внесите по **50 мкл** стандартов, образцов и контролей в соответствующие лунки.
3. Внесите по **100 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку.
4. Тщательно перемешивайте содержимое лунок в течении **30 секунд**. Важно добиться полного перемешивания на этом этапе.
5. Инкубируйте при комнатной температуре (18-25°C) в течении **45 мин**.
6. Удалите содержимое лунок.
7. Промойте лунки дистиллированной или неионизированной водой **5 раз**. (Не пользуйтесь водопроводной водой).
8. Перевернуть планшет и легко постучать им по расстеленному листу промокательной бумаги или бумажного полотенца для удаления остатков жидкости.
9. Внесите **100 мкл** раствора ТМВ 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 перемешивайте 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 15 мин**.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Рассчитать средние значения поглощения (A_{450}) для каждого стандарта, контрольных сывороток и образцов.
2. 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).
3. С помощью средних значений поглощения для каждого образца по калибровочной кривой определить соответствующую концентрацию ГРЧ в нг/мл

ПРИМЕР ПОСТРОЕНИЯ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

Результаты получают с помощью калибровочной кривой. Пример построения калибровочной кривой приведен в качестве иллюстрации. Ее нельзя использовать для расчета неизвестных значений. В каждом исследовании каждый пользователь должен руководствоваться своими данными и калибровочной кривой.

ГРЧ (нг/мл)	Поглощение (450 нм)
0	0,052
2,5	0,392
5	0,641
10	1,125
25	1,946
50	2,610

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Каждая лаборатория должна установить свои собственные границы значений, базируемые на популяции пациентов. Нормальные границы концентрации ГРЧ тяжело определить в связи с физиологическими ее колебаниями. У большинства взрослых в покое, после ночного сна ГРЧ-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 исследования 0,5 нг/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. В исследовании не должны использоваться образцы с высоким уровнем липемичности, гемолиза или мутности.

2. Результаты полученные от использования настоящего набора должны использоваться в качестве дополнения к другим диагностическим процедурам и информации, располагаемой врачом.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
Тел.: (0342) 775122
Тел/факс: (0342) 775612
E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua