کیت سنجش هورمون رشد به روش الایزا

حیطه کاربرد: کیت الایزای هورمون رشد پیشتاز طب، برای سنجش کمی هورمون رشد در سرم انسان و تشخیص اختلالات ترشح هورمون رشد طراحی شده است. این کیت تنها برای تشخیص آزمایشگاهی می‌باشد.

مقدمه:

هورمون رشد انسان (hGH)، یک هورمون پلی پپتیدی با وزن ملکولی ۲۱۵۰۰ دالتون است که توسط سلول های اسیدوفیل هیپوفیز قدامی ترشح می شود. ترشح این هورمون با ۱۹۱ اسید آمینه، توسط GHRH (Growth Hormone Releasing Hormone) تحریک و به وسیله سوماتواستاتین مهار می‌شود که هر دو آن‌ها را هیپوتالاموس ترشح می کند. ترشح هورمون رشد از دوره جنینی شروع شده و در دوره نوزادی و بلوغ مقدار آن بالا است ولی با افزایش سن پس از بلوغ ترشح آن کاهش می‌یابد. ترشح این هورمون ضربانی بوده و حداکثر میزان ترشح در شب به ویژه در یک ساعت اول خواب عمیق است. هورمون رشد، برخلاف سایر هورمون‌های هیپوفیز، اثرات خود را به صورت مستقیم بر روی تقریبا تمام بافت‌های بدن اعمال می‌کند و موجب رشد تمام بافت‌های قابل رشد بدن می‌گردد. هورمون رشد باعث افزایش سنتز و ترشح(Insulin Like Growth Factor) IGF-1 از کبد می‌شود و اثرات خود را هم به صورت مستقیم و هم از طریق IGF-1 اعمال می‌کند. اندازه‌گیری هورمون رشد پایه به دلیل دامنه نوسان زیاد آن، نمی‌تواند تایید کننده تشخیص باشد و لذا از تست‌های تحریکی استفاده می‌شود که در آن از ورزش، هیپوگلیسمی با انسولین، L-DOPA، کلونیدین و انفوزیون ترکیب GHRH و آرژنین جهت تحریک ترشح هورمون رشد استفاده می‌شود. تست تحریکی تست قطعی جهت تشخیص کمبود هورمون رشد می‌باشد. اندازه‌گیری غلظت هورمون رشد در تشخیص اختلالاتی نظیر آکرومگالی، کوتاهی قد، ژیگانتیسم، سندرم پرادرویلی، تومور هیپوفیزی و سندرم ترنر اهمیت بسیار دارد. از این رو کیت الایزای هورمون رشد پیشتاز طب، می‌تواند به عنوان ابزار تشخیص اختلالات ترشح هورمون رشد به کار برده شود.

اساس آزمایش:

اساس کیت کمی سنجش هورمون رشد به روش الایزای ساندویچ و با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال می‌باشد. در این روش چاهک‌ها توسط آنتی‌بادی مونوکلونال علیه یکی از شاخص‌های آنتی‌ژنیک هورمون رشد پوشش داده می‌شوند (Coating). نمونه بیماران با آنتی بادی پوشش داده شده در ته چاهک و آنتی بادی ثانویه ضد هورمون رشد متصل به آنزیم HRP انکوبه می گردد. مقدار کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهک‌ها با غلظت هورمون رشد در نمونه‌ها متناسب است. پس از شستشو، محلول رنگزا که محتوی هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و کروموژن است داخل چاهک‌ها ریخته می‌شود که رنگ آبی پدید آمده متناسب با کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهک‌ها است. با افزودن محلول متوقف کننده رنگ آبی به زرد تبدیل می‌شود که بهترین جذب نوری را در طول موج ۴۵۰ نانومتر دارد.

محتویات کیت:

۱) یک عدد پلیت دارای ۹۶ عدد چاهک پوشش داده شده با آنتی بادی منوکلونال ضد هورمون رشد.

۲) محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate): یک ویال ۱۲ میلی‌لیتری حاوی محلول آنتی بادی ضد هورمون رشد متصل شده به آنزیم پراکسیداز (آماده برای مصرف–قرمز رنگ)

۳) سری استانداردها (Standards Set): شامل ۶ ویال (استاندارد صفر: ۲ میلی لیتر، سایر استانداردها ۰/۵ میلی لیتر) از استاندارد با غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ ng/ml از هورمون رشد (آماده برای مصرف–سبز رنگ). (استانداردسازی شده با ماده مرجع بین‌المللی WHO (1st IS 80/505)

۴) سرم کنترل پایین (Low Control Serum): یک ویال ۰/۵میلی لیتری حاوی مقدار مشخص هورمون رشد رقیق شده در محلول بافری دارای پروتئین به عنوان پایدار کننده و ۰/۰۵٪ کاتن به عنوان ماده محافظ (آماده برای مصرف–زرد رنگ). غلظت دقیق کنترل روی ویال ذکر شده است.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms 300071402
ویرایش اول – بهمن ۱۴۰۰

۵) سرم کنترل بالا (High Control Serum): یک ویال ۰/۵ میلی لیتری حاوی مقدار مشخص هورمون رشد رقیق شده در محلول بافری دارای پروتئین به عنوان پایدار کننده و ۰/۰۵٪ کاتن به عنوان ماده محافظ (آماده برای مصرف–قرمز رنگ). غلظت دقیق کنترل روی ویال ذکر شده است.

۶) محلول رنگزای یک مرحله ای (Chromogen-Substrate): یک ویال ۱۲ میلی لیتری حاوی تترا متیل بنزیدین و آب اکسیژنه (آماده برای مصرف– بی رنگ).

۷) محلول شستشو (Wash Buffer): یک ویال ۵۰ میلی لیتری حاوی محلول شستشوی غلیظ (20x) دارای محلول بافر فسفات و ۰/۰۵٪ توئین، جهت تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، مقدار مورد نیاز را با آب مقطر به نسبت ۱/۲۰ رقیق نمایید.

۸) محلول متوقف کننده (Stop Solution): یک ویال ۱۲ میلی‌لیتری حاوی اسید کلریدریک ۱ نرمال.

۹) یک عدد برچسب مخصوص پلیت.

۱۰) دستورالعمل مصرف.

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی باشند:

۱) دستگاه الایزاریدر دارای فیلتر ۴۵۰ نانومتر (در صورت امکان ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس)

۲) سمپلرهای دقیق و کالیبره ۲۰ و ۱۰۰ میکرولیتری و سر سمپلرهای مخصوص یکبار مصرف

۳) کاغذ نمگیر

۴) آب مقطر

نکات قابل ذکر برای مصرف کنندگان:

۱) محتویات این کیت تنها برای مصرف در همین کیت قابل استفاده هستند.

۲) تمامی محتویات کیت تنها برای استفاده تشخیصی در آزمایشگاه می‌باشند.

۳) تنها پرسنل آموزش دیده بایستی از این تست استفاده نمایند.

۴) این کیت صرفا جهت اندازه‌گیری هورمون رشد در سرم انسانی طراحی و ساخته شده است.

۵) از مخلوط کردن محتویات کیت‌ها با شماره ساخت های مختلف جداً خودداری نمایید.

۶) کلیه مواد موجود در کیت که منشاء سرمی دارند از نظر وجود HBsAg و آنتی‌بادی های HCV و HIV کنترل گردیده‌اند و فاقد این عوامل می‌باشند. جهت احتیاط بهتر است کاربرانی که با کیت کار می‌کنند از تماس مستقیم با مواد بپرهیزند و از وسایل ایمنی لازم در آزمایشگاه استفاده نمایند.

۷) نمونه بیماران، استانداردها، کنترل‌ها و چاهک‌های استفاده شده، باید به عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند. تمام محلول‌های واکنش‌گر و معرف‌ها باید مطابق با مقررات ملی دفع پسماندهای عفونی امحاء شوند.

شرایط نگهداری:

۱) کیت را در یخچال بین دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمایید.

۲) چاهک ها را در کیسه مخصوص پلیت همراه با نمگیر نگهداری نمایید.

۳) پایداری محتویات کیت تا پایان مدت انقضای نوشته شده بر روی هر یک از آن ها می‌باشد.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms 300071402
ویرایش اول – بهمن ۱۴۰۰

۴) ممکن است در محلول شستشوی غلیظ کریستال تشکیل شود که این امر مشکلی را ایجاد نمی‌نماید. قبل از تهیه محلول شستشوی کار، برای حل شدن کریستال ها، ویال را در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دهید. محلول شستشو را به نسبت ۱/۲۰ به میزان مورد نیاز با آب مقطر رقیق نمایید؛ این محلول (آماده مصرف) به مدت یک هفته در شرایط ۸-۲ درجه سانتی گراد قابل نگهداری و مصرف می‌باشد.

جمع آوری و آماده سازی نمونه:

سرم را می‌توان پس از جدا نمودن از لخته خون استفاده نمود. نمونه ی سرم می‌تواند برای مدت حدود یک هفته در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. هم‌چنین در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا ۱ ماه پایدار است. (در ضمن باید از Freeze - thaw نمودن نمونه پرهیز شود) از نمونه‌های مشکوک به آلودگی میکروبی جهت انجام آزمایش استفاده نشود.

توضیحات عمومی:

۱) قبل از شروع مراحل آزمایش تمام مواد و نمونه‌ها باید به درجه حرارت اتاق برسند. پلیت را بعد از رسیدن به دمای محیط از کیسه مخصوص آن خارج کرده و چاهک‌های مورد نیاز را بردارید.

۲) به محض شروع آزمایش کلیه مراحل باید بدون توقف انجام پذیرند. از خشک شدن چاهک‌ها در بین مراحل انکوباسیون پرهیز شود.

۳) حتما از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه استفاده شود.

۴) پس از افزودن محلول متوقف کننده، جذب نوری چاهک‌ها حداکثر تا نیم ساعت قابل قرائت می‌باشد.

۵) برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهک‌ها بصورت کامل صورت گرفته و آخرین قطرات پس از شستشو از چاهک‌ها تخلیه شوند.

۶) از مهم ترین فاکتورها در حصول نتیجه مطلوب، زمان انکوباسیون مناسب می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد قبل از شروع آزمایش تمام مواد و محلول های مورد نیاز را آماده نموده و درب آن ها را باز کنید، این عمل با کاهش فاصله زمانی بین مراحل سمپلینگ باعث نتایج دقیق‌تر می‌شود.

مراحل انجام آزمایش:

۱) تعداد چاهک های مورد نظر را انتخاب کرده و سایر چاهک ها را به همراه نمگیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و درب آن را ببندید.

۲) ابتدا مقدار ۲۰ میکرولیتر از هر استاندارد، کنترل و نمونه را به داخل هر چاهک بریزید. (پیشنهاد می‌گردد که از استانداردها و نمونه‌ها به صورت داپلیکیت استفاده شود بدین معنی که هر استاندارد و کنترل را در دو چاهک بریزید و در انتها از میانگین جذب نوری آن‌ها برای محاسبه نتایج استفاده کنید.)

۳) ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کونژوگه را به هر چاهک اضافه نموده و پلیت را به آرامی به مدت ۱۵ ثانیه تکان دهید تا محتویات آن بخوبی مخلوط شوند درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهک‌ها را به مدت ۶۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق (۲۸ – ۲۲ درجه سانتی‌گراد) انکوبه نمایید.

۴) محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را ۵ بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید. برای شستشو چنانچه دستگاه واشر اتوماتیک در دسترس نباشد می‌توان از سمپلر ۸ کاناله استفاده نمود ولی باید مواظب بود که محلول شستشو از یک چاهک به چاهک دیگر وارد نشود زیرا می‌تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد. در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک‌ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نمایید و در انتهای عملیات شستشو، چاهک‌ها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه یا کاغذ نمگیر بکوبید تا قطرات اضافی خارج شوند.

۵) ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا (Chromogen-Substrate) به هر چاهک اضافه نمایید، چاهک‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی قرار دهید.

۶) با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (Stop Solution) به هر چاهک، واکنش‌های آنزیمی را متوقف نمایید. برای سنجش جذب نوری هر چاهک از دستگاه الایزا ریدر با فیلتر ۴۵۰ nm استفاده نموده و جذب نوری چاهک‌ها را قرائت نمائید. توصیه می‌شود از فیلتر ۶۳۰ nm به عنوان فیلتر رفرانس استفاده گردد.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms 300071402
ویرایش اول – بهمن ۱۴۰۰

محاسبه نتایج:

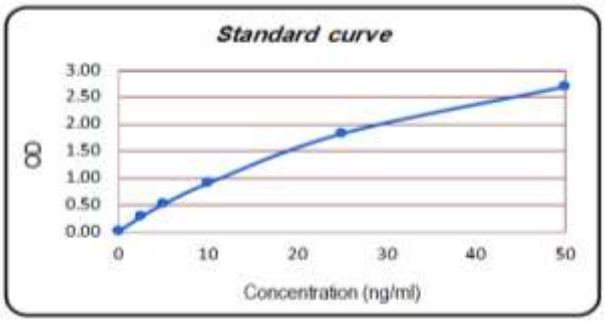
از هر دستگاه الایزا ریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج ۴۵۰ nm می‌توان استفاده نمود.

۱) جذب نوری استانداردها، کنترل‌ها و نمونه‌ها را به کمک دستگاه الایزاریدر در طول موج ۴۵۰ nm و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس۶۳۰ nm بخوانید.

۲) با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها و غلظت معلوم آن‌ها نموداری (Point to point) رسم کنید به این صورت که جذب نوری استانداردها را روی محور عمودی (Y) و غلظت آن‌ها را روی محور افقی (X) برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد بدست آورید، سپس نقاط بدست آمده را به یکدیگر وصل نمایید تا منحنی بدست آید.

۳) میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور عمودی جای آن را پیدا کنید، سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل نمایید به طوری‌که این خط بر محور عمودی کاملاً عمود باشد و بعد از محل تلاقی خط و منحنی، خطی عمود بر محور افقی وارد کنید، نقطه تلاقی این خط با محور افقی مقدار غلظت را نشان خواهد داد.

Growth Hormone Standard Curve



استانداردها (ng/ml)	جذب نوری
0	0.02
2.5	0.29
5	0.52
10	0.91
25	1.83
50	2.70

توجه : جذب های نوری و منحنی مربوطه فقط به عنوان نمونه می باشد و هر آزمایشگاه در هر دفعه انجام آزمایش باید منحنی جدیدی رسم نماید.

ارزشیابی آزمایش:

این آزمایش با داشتن شرایط زیر ارزشمند و قابل گزارش تلقی می‌گردد:

– جذب نوری استاندارد صفر و ۵۰ ng/ml به ترتیب کمتر از ۰/۱ و بیشتر از ۱/۶ قابل قبول است.

مقادیر مورد انتظار:

غلظت نرمال هورمون رشد در سرم خون 10> ng/ml می‌باشد اما هر آزمایشگاه بایستی دامنه استاندارد خود را تعیین کند.

در حالت معمول، ترشح هورمون رشد انسانی به شکل موجی (ضربانی) است. در طی روز، غلظت های هورمون رشد کمتر از 0.06 ng/ml تا 3.33 متغیر است و در مدت زمان خوابیدن فرد، غلظت هورمون رشد به شکل مداومی افزایش می یابد (10± ng/ml). ترشح هورمون رشد با انجام حرکات ورزشی، مصرف داروها و سایر آزمون‌های تحریکی افزایش می‌یابد، اما در شرایط کم‌کاری هیپوفیز و کمبود هورمون رشد، پاسخی به تست تحریکی وجود نداشته و یا بسیار کم است.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms 300071402
ویرایش اول – بهمن ۱۴۰۰

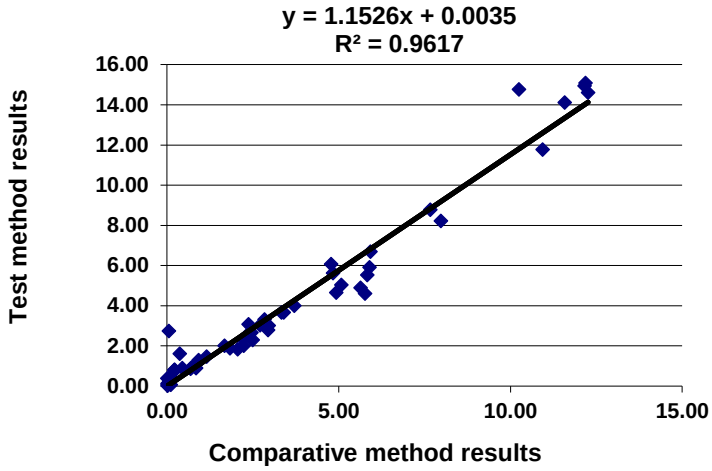
محدودیت‌های روش اندازه گیری:

به ندرت امکان دارد بعضی عوامل موجود در نمونه سرم، از جمله آنتی‌بادی‌های هتروفیلیک، برخی داروها، اتوآنتی‌بادی‌ها و نظایر این‌ها بر نتیجه آزمایش اثر بگذارند. بنابراین بهتر است تفسیر نتیجه آزمایش با در نظر گرفتن نتایج معاینات بالینی، یافته‌های تشخیصی دیگر و شرح حال بیمار انجام گیرد.

شاخص های اجرایی:

۱) مطالعه مقایسه‌ای:

کیت سنجش هورمون رشد شرکت پیشتاز طب با کیت تجاری مربوطه مقایسه شد. تعداد ۷۳ نمونه سرم برای تست‌های مقایسه‌ای استفاده شدند. نتایج تست‌های مقایسه‌ای بروی نمونه‌های ذکر شده بیانگر همبستگی ۹۸٪ بین کیت پیشتاز طب و کیت تجاری معتبر بود.



۲) حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری:

جذب نوری استاندارد صفر و سه برابر انحراف معیار (SD) مبنای مرز شاهد (LoB) در این کیت می‌باشد. بر اساس جذب نوری نمونه با غلظت پایین آنالیت و سه برابر انحراف معیار (SD) حداقل غلظت قابل تشخیص هورمون رشد در این کیت (0.15 ng/ml) می‌باشد.

۳) دقت آزمایش:

جهت بررسی تکرار پذیری کیت، آزمون های دقت درون سنجی (در یک کیت) و میان سنجی (بین چند کیت از یک سری ساخت) به وسیله پنج نمونه سرمی با غلظت های متفاوت هورمون رشد انجام شد که نتایج آن در جداول مربوطه آمده است.

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms 300071402
ویرایش اول – بهمن ۱۴۰۰

- آزمون دقت درون سنجی (Intra- assay):

	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (ng/ml)	SD (ng/ml)	CV (%)
نمونه ۱	20	1.03	0.03	2.91
نمونه ۲	20	3.96	0.16	4.04
نمونه ۳	20	13.66	0.51	3.73
نمونه ۴	20	20.06	1.03	5.13
نمونه ۵	20	42.63	2.74	6.42

- آزمون دقت میان سنجی (Inter- assay):

	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (ng/ml)	SD (ng/ml)	CV (%)
نمونه ۱	20	0.95	0.06	6.31
نمونه ۲	20	4.56	0.37	8.11
نمونه ۳	20	13.17	1.06	8.04
نمونه ۴	20	21.78	1.91	8.76
نمونه ۵	20	42.88	1.64	3.82

٤) ریکاوری آزمایش:

مقادیر مشخصی از هورمون رشد به سه نمونه سرم با مقادیر معلومی از هورمون رشد افزوده شد و ریکاوری آن ها محاسبه گردید که نتایج آن در جدول زیر آمده است:

* جهت تست ریکاوری از استانداردهای کیت استفاده نشود.

جدول ریکاوری:

نمونه	مقدار هورمون رشد موجود در سرم (ng/ml)	مقدار هورمون رشد افزوده شده (ng/ml)	مقدار مورد انتظار	مقدار بدست آمده	ریکاوری (٪)
1	2.05	2.62	2.15	2.10	98
1	2.05	11.31	6.68	6.89	103
1	2.05	14.18	8.12	8.64	106
2	8.29	2.26	5.27	4.98	94
2	8.29	11.31	9.80	10.01	102
2	8.29	14.18	11.23	11.50	102
3	22.62	2.26	12.44	12.22	98
3	22.62	11.31	16.97	17.18	101
3	22.62	14.18	18.40	17.69	96

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms 300071402
ویرایش اول – بهمن ۱۴۰۰

۵) خطی بودن آزمایش:

برای تایید خطی بودن تست رقت های سریالی از ۳ نمونه سرم با غلظت مشخص از هورمون رشد تهیه گردید و نتایج بر اساس ضریب رقت و درصد ریکاوری محاسبه شد که در جدول زیر نتایج آن آورده شده است.

نمونه	مقدار هورمون رشد موجود در سرم رقیق نشده (ng/ml)	ریکاوری (٪)			
		رقت ۱/۲	رقت ۱/۴	رقت ۱/۸	رقت ۱/۱۶
1	40.35	103.76	93.03	93.48	91.36
2	31.32	100.65	99.19	90.95	95.55
3	38.69	101.19	101.60	105.13	106.17

٦) تست تداخل:

جهت بررسی تداخل کیت به سه نمونه سرم مقادیر زیر از عوامل مداخله‌گر اضافه و میزان ارزش نمونه در قبل و بعد از افزودن عوامل مداخله‌گر محاسبه شد و نتایج جدول زیر بدست آمد.

آنالیت مداخله‌گر	غلظت آنالیت مداخله‌گر	ارزش نمونه قبل از افزودن آنالیت مداخله‌گر (ng/ml)	ارزش نمونه پس از افزودن آنالیت مداخله‌گر (ng/ml)	ریکاوری (٪)
هموگلوبین	1 mg/dl	0.49	0.46	94
		5.65	5.27	93
		9.99	9.21	92
تری گلیسرید	600 mg/dl	0.51	0.48	94
		5.67	5.20	92
		10.01	9.49	95
بیلی روبین	12 mg/dl	0.53	0.53	100
		5.70	5.18	91
		10.04	9.23	92

۷) اختصاصیت آزمایش :

جهت بررسی اختصاصیت کیت سنجش هورمون رشد اثر تداخلی آنالیت‌های هورمونی زیر بررسی گردید، نتایج در جدول زیر آمده است:

آنالیت	غلظت	واکنش متقاطع
Prolactin	150000 mIU/L	<0.15
FSH	15000 IU/L	<0.15
TSH	500 mIU/L	<0.15
LH	2500 IU/L	<0.15
hCG	150000 IU/L	<0.15

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms 300071402
ویرایش اول – بهمن ۱۴۰۰

۸) اثر هوک (Hook Effect) :

آزمایش هورمون رشد جهت سرم های با غلظت بسیار بالا از این آنالیت (تا 600 ng/ml) صورت گرفت که پدیده هوک مشاهده نشد .

References:

1. Ayuk, J., & Sheppard, M. C. (2006). Growth hormone and its disorders. *Postgraduate Medical Journal*, *82*(963), 24. https://doi.org/10.1136/PGMJ.2005.036087
2. Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Bruns, D. E., & Tietz, N. W. (2013). *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 238.
3. Glynn, N., & Agha, A. (2012). Diagnosing Growth Hormone Deficiency in Adults. *International Journal of Endocrinology*, *2012*. https://doi.org/10.1155/2012/972617
4. Hartman, M. L., Veldhuis, J. D., & Thorner, M. O. (1993). Normal Control of Growth Hormone Secretion. *Hormone Research in Paediatrics*, *40*(1–3), 37–47. https://doi.org/10.1159/000183766
5. Ranke, M. B., Ørskov, H., Bristow, A. F., Seth, J., & Baumann, G. (1999). Consensus on How to Measure Growth Hormone in Serum. *Hormone Research in Paediatrics*, *51*(Suppl. 1), 27–29. https://doi.org/10.1159/000053132
6. Ribeiro de Oliveira Longo Schweizer, J., Ribeiro-Oliveira Jr, A., & Bidlingmaier, M. (2018). Growth hormone: isoforms, clinical aspects and assays interference. *Clinical Diabetes and Endocrinology*, *4*(1). https://doi.org/10.1186/S40842-018-0068-1
7. Stanley, T. (2012). Diagnosis of growth hormone deficiency in childhood. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity*, *19*(1), 47–52. https://doi.org/10.1097/MED.0B013E32834EC952

روش انجام آزمایش هورمون رشد به صورت شماتیک			
چاهک‌های کوت شده با آنتی بادی ضد هورمون رشد			
محلول ها	استاندارد	کنترل	نمونه
استانداردها	۲۰ میکرولیتر	–	–
کنترل ها	–	۲۰ میکرولیتر	–
نمونه	–	–	۲۰ میکرولیتر
آنزیم کونژوگه	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
پلیت را به ملایمت برای مدت ۱۵ ثانیه تکان دهید تا محتویات چاهک ها بخوبی مخلوط شوند و سپس دهانه چاهک ها را با برچسب مخصوص پلیت بپوشانید. ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهک ها را خالی کنید. طبق دستور شستشو ۵ بار چاهک‌ها را بشویید.			
محلول رنگزا	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه کنید.			
محلول متوقف کننده	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
جذب نوری چاهک‌ها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر (و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس) قرائت کنید.			

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com sms 300071402

ویرایش اول – بهمن ۱۴۰۰