




Manual del usuario



# HGH ELISA

IVD

**REF** EIA-1787

 96 pozos

08/07

 Fabricante Legal:

**DRG** 

*DRG Instruments GmbH, Germany*

*Division of DRG International, Inc*

*Frauenbergstr. 18, D-35039 Marburg*

Telefon: +49 (0)6421-17000 Fax: +49-(0)6421-1700 50

Internet: [www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)

E-mail: [drg@drg-diagnostics.de](mailto:drg@drg-diagnostics.de)

Distribuido por:





## Manual del usuario



 **Fabricante Legal:**



*DRG Instruments GmbH, Germany*

*Division of DRG International, Inc*

*Frauenbergstr. 18, D-35039 Marburg*

Telefon: +49 (0)6421-17000 Fax: +49-(0)6421-1700 50

Internet: [www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)

E-mail: [drg@drg-diagnostics.de](mailto:drg@drg-diagnostics.de)

**Distribuido por:**



---

*Por favor use solamente la versión válida de las instrucciones de uso provista con el kit.*

### **Para Diagnóstico in vitro únicamente**

Almacenar entre 2 a 8°C.

## **1 USO**

La prueba HGH ELISA está diseñada para la determinación cuantitativa de la concentración de hormona de crecimiento humana (HGH) en suero humano.

La prueba es usada en el diagnóstico y tratamiento de desórdenes involucrados con la glándula pituitaria anterior.

## **2 EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA**

La Hormona de Crecimiento Humana (hGH, somatotropina) es un polipéptido secretado por la pituitaria anterior. Esta tiene 191 aminoácidos de longitud, una masa molecular de aproximadamente 22,000 daltons, y sus efectos metabólicos son anabólicos primarios.<sup>1</sup> La hGH promueve la conservación de proteínas y se dedica a una amplia gama de mecanismos para la síntesis de proteínas. También mejora el transporte de glucosa y facilita el almacenamiento de glucógeno. Su cascada de acción promotora de crecimiento está mediada por otra familia de hormonas peptídicas, las somatomedinas.<sup>2</sup> La medición de hGH es de principal interés en el diagnóstico y tratamiento de varias formas de secreción anormal de hormona de crecimiento. Los desórdenes causados por hiposecreción incluyen enanismo y crecimiento potencial no alcanzado. La hipersecreción está asociada con gigantismo y acromegalia.<sup>3</sup>

Se debe tener precaución en la interpretación clínica de los niveles de hormona de crecimiento. Estos varían a lo largo del día, por lo que es difícil definir un rango normal o el estado de una persona basados en una única determinación. Hay muchos factores conocidos que influyen en la tasa de secreción de la hormona de crecimiento, incluidos periodos de sueño y vigilia, ejercicio, estrés, hipoglicemia, estrógenos, corticoides y L-dopa. Debido a su similitud con la prolactina y el lactógeno placentario, en inmunoensayos de GH anteriores eran a menudo frecuentes valores falsamente altos en mujeres embarazadas y lactantes.<sup>2,3,6</sup>

Las personas con deficiencia de Hormona de Crecimiento tienen niveles en ayuno y en reposo similares a los que se han encontrado en personas normales. Por lo tanto diferentes pruebas se han ideado para diferenciarlos. Por ejemplo, al inicio de un sueño profundo o después de 15 a 20 minutos de ejercicio vigoroso, los niveles de hormona de crecimiento aumentan normalmente.<sup>4</sup>

Otras pruebas de sensibilidad a la Hormona de Crecimiento se basan en la administración de L-dopa, arginina e insulina. El Propanolol o estrógenos a veces se dan en combinación con el estímulo primario para acentuar la respuesta.<sup>4,5</sup>

Un pequeño número de casos de enanismo se ha documentado en el cual ambos, tanto el nivel basal de hGH y la respuesta a los estímulos fueron normales. Tales casos pueden implicar la insensibilidad tisular a cualquier hormona de crecimiento o las somatomedinas, o inmunorreactividad, pero biológicamente la hormona de crecimiento es inactiva.<sup>4</sup>

El inmunoensayo enzimático de Hormona de Crecimiento suministra una medida rápida, sensible y confiable de Hormona de Crecimiento. No hay reactividad cruzada con hCG, TSH, LH, FSH y prolactina.

## **3 PRINCIPIO DEL ENSAYO**

El HGH ELISA está basado en el principio de fase sólida de inmunoadsorción unido a enzimas (ELISA). El sistema de prueba utiliza un anticuerpo de oveja anti -HGH para la fase sólida (pocillos de microtitulación) inmovilizados y un anticuerpo monoclonal anti-HGH en la solución de conjugado anticuerpo-enzima (peroxidasa de rábano). La muestra en la prueba reacciona simultáneamente con los anticuerpos, provocando moléculas de hGH intercaladas entre la fase sólida y los anticuerpos ligados a enzimas.

Después de una incubación de 45 minutos a temperatura ambiente, los pozos se lavan con agua para remover los anticuerpos marcados no unidos. Una solución de TMB se adiciona e incuba por 20 minutos, produciendo desarrollo de color azul. El desarrollo de color se detiene con la adición de HCl 1N, y el color cambia a amarillo y se mide espectrofotométricamente a 450 nm. La concentración de HGH es directamente proporcional a la intensidad de color de la muestra analizada.

## **4 REACTIVOS Y MATERIALES PROVISTOS**

1. **Pozos cubiertos con anticuerpo** (1 plato, 96 pozos)  
pocillos de microtitulación recubiertos con anti-hGH de cabra.
2. **Reactivo Enzima Conjugada** (13 mL)  
Contiene conjugado de anticuerpo monoclonal anti-hGH contra peroxidasa de rábano.
3. **Juego de estandar de Referencia** (1 mL/vial)  
Contiene 0, 2.5, 5, 10, 25 y 50 ng/mL de hormona de crecimiento humana, listo para usar.

4. **Reactivo TMB** (1 botella, 11 mL)  
Contiene 3, 3', 5, 5' tetramethylbenzidine (TMB) estabilizado en solución buffer.
5. **Solución de Parada** (1N HCl) (1 botella, 11 mL)  
Contiene ácido clorhídrico diluido.

## 5 MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

- Agua destilada o desionizada
- Pipetas de precisión: 0.05, 1.0, 0.2, y 1 mL
- Puntas de pipeta desechables
- Lector de micropozos con capacidad de lectura de absorbancia a 450 nm.
- Papel absorbente
- Papel para graficar
- Vortex mezclador o equivalente
- Material de control de calidad (ej., Suero control BioRad Lyphochek)

## 6 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. **PRECAUCIÓN:** Este kit contiene material humano. El origen del material usado para la fabricación de éste kit fue negativo para HBsAg, HIV 1/2 y HCV por métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método puede asegurar completamente la ausencia de éstos agentes. Por lo tanto, todos los productos de sangre humana, incluyendo muestras de suero, deben ser consideradas potencialmente infecciosas. La manipulación y disposición deben ser definidos apropiadamente según la regulación nacional para material biopeligroso, donde existe.<sup>21</sup>
2. No use reactivos después de la fecha de expiración y no mezcle o use componentes de kits de diferente número de lote.
3. No use reactivos cuando se vuelvan turbios o se sospeche contaminación.
4. No use el reactivo si el vial está dañado.
5. Vuelva a colocar las tapas de los reactivos inmediatamente. No cambie las tapas.
6. Cada pocillo puede ser usado una sola vez.
7. No pipetee reactivos con la boca.
8. Las soluciones que contienen aditivos o preservantes, tales como acida sódica, no deben ser usados en la reacción enzimática.
9. Evite el contacto con HCl 1N. Esto puede causar irritación de la piel y quemaduras. Si ocurre contacto, lave con abundante cantidad de agua y si la reacción persiste buscar atención médica.
10. Para diagnóstico in vitro.

## 7 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

1. Almacenar el kit entre 2 °C - 8 °C al recibirlo y cuando no esté en uso, hasta la expiración indicada en la etiqueta del kit. Consulte la etiqueta del empaque para la fecha de expiración.
2. Los reactivos abiertos y usados son estables hasta la fecha de expiración si son almacenados apropiadamente entre 2 °C - 8 °C.
3. Mantenga la placa de microtitulación en una bolsa sellada con desecante para minimizar la exposición a la humedad del aire.

## 8 INSTRUMENTACIÓN

Un lector de microplacas con un ancho de banda 10 nm o menos y un rango de densidad óptica de 0 a 2 DO o mayor a 450 nm de longitud de onda se acepta para la medida de la absorbancia.

## 9 TOMA DE MUESTRA Y PREPARACIÓN

1. El suero debe ser tomada a partir de una muestra de sangre total obtenida por técnicas médicamente aceptables. Evitar el uso de aditivos. Evitar muestras hemolisadas, lipémicas o turbias.

2. Las muestras deben estar tapadas y pueden estar almacenadas hasta por 48 horas de 2 °C a 8 °C antes de la prueba. Muestras almacenadas por más tiempo (hasta 6 meses) deben ser congeladas una sola vez a -20 °C antes de la prueba. Las muestras descongeladas deben invertirse varias veces antes de la prueba.

### 3. Preparación de reactivos

Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) antes del uso, y deben ser mezclados por inversión suave o mezclados. No formar burbujas.

## 10 NOTAS DEL PROCEDIMIENTO

1. Pipeteo Manual: se recomienda no usar más de 32 pozos para cada corrida de una prueba. El pipeteo de todos los estándares, muestras y controles debe ser completado dentro de 3 minutos. Una pipeta multicanal es recomendada.
2. Pipeteo Automático: Un plato completo de 96 pozos puede usarse en cada corrida del ensayo. Sin embargo, se recomienda que el pipeteo de todos los estándares, muestras y controles sea completado dentro de 3 minutos.
3. Todos los estándares, muestras, y controles deben correrse por duplicado para que todas las condiciones de la prueba sean las mismas.
4. Se recomienda que los pozos se lean dentro de 15 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

## 11 PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos en el soporte.
2. Pipetee 50 µL de estándares, muestras, y controles en los pocillos apropiados.
3. Adicione 100 µL de Reactivo de Enzima Conjugada en cada pocillo.
4. Mezcle vigorosamente por 30 segundos.
5. Incube a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) por 45 minutos.
6. Retire la placa de incubación y sacuda el contenido de la placa en un recipiente para residuos.
7. Lave y sacuda la placa de micropozos 5 veces con agua destilada.
8. Golpee los pozos sobre papel absorbente o toallas de papel para remover todas las gotas de agua residuales.
9. Dispense 100 µL de Reactivo TMB en cada pozo. Mezcle suavemente por 5 segundos.
10. Incube a temperatura ambiente, en la obscuridad, por 20 minutos.
11. Pare la reacción adicionando 100 µL de solución de parada a cada pozo.
12. Mezcle suavemente por 30 segundos. ***Asegúrese de que todo el color azul cambie completamente a amarillo.***
13. Lea la absorbancia a 450 nm con un lector de microplacas ***dentro de 15 minutos.***

## 12 CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Calcule el valor medio de la absorbancia ( $DO_{450}$ ) a partir de los estándares de referencia, controles y muestras.
2. Construya una curva estándar trazando la absorbancia media obtenida para cada estándar de referencia contra su concentración en ng/mL sobre papel para graficar, con la absorbancia sobre el eje (y) y la concentración sobre el eje (x).
3. Usando el valor medio de la absorbancia para cada muestra, determine la concentración correspondiente de HGH en ng/mL a partir de la curva estándar. Dependiendo de la experiencia y/o disponibilidad de la capacidad del computador, otros métodos de reducción de datos pueden ser empleados.

### 4. Estandarización de la prueba

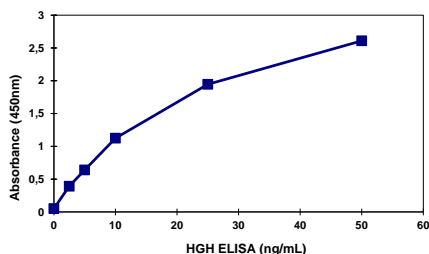
Los estándares de referencia de HGH son calibrados contra una preparación de referencia primaria de la Organización Mundial de la Salud. (WHO 1<sup>st</sup> IRP 66/217).

## 13 EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Resultados de una curva típica estándar con lecturas de densidad óptica a 450 nm se muestran en el eje Y contra HGH (ng/mL) mostrados en el eje X, a continuación se presentan.

**NOTA:** la curva estándar es solamente para ilustración, y no debe ser usada para calcular desconocidos.

HGH (ng/mL)	Absorbancia (450 nm)
0	0.052
2.5	0.392
5	0.641
10	1.125
25	1.946
50	2.610



#### 14 VALORES ESPERADOS

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos normales con base en la población de pacientes.

Un rango normal para niveles de hormona de crecimiento humana es difícil de definir debido a las fluctuaciones fisiológicas normales en la concentración de HGH.<sup>6</sup> En la mayoría de adultos en reposo, después de un ayuno durante la noche, el nivel de HGH en suero es de 7 ng/mL o menos.

Los cambios en los niveles de HGH en respuesta a varios estímulos da una evaluación más precisa de la disfunción pituitaria.

## 15 CONTROL DE CALIDAD

Las buenas prácticas de Laboratorio requieren que se corra un control de calidad bajo, medio y alto (controles) con cada curva de calibración para comprobar el desempeño de la prueba.

Para asegurar el apropiado desempeño, un número significativamente estadístico de controles debe ser analizado para establecer los valores medios y los rangos aceptables.

## 16 CARACTERÍSTICAS DE LA PRUEBA

### Precisión

Un estudio estadístico con muestras de pacientes demostró una buena correlación de resultados con los kits disponibles en el mercado como se muestra a continuación:

a. Comparaciones entre kits DRG y DPC suministran los siguientes datos:

N = 134

Coefficiente de correlación = 0.962

Pendiente = 1.041

Intercepto = 0.115

DRG Media = 1.780 ng/mL

DPC Media = 1.970 ng/mL

b. Comparaciones entre kits DRG y el Instituto Nichols suministran los siguientes datos:

N = 134

Coefficiente de correlación = 0.985

Pendiente = 0.860

Intercepto = 0.119

DRG Media = 1.780 ng/mL

Nichols Media = 1.650 ng/mL

### Sensibilidad

La mínima concentración detectable de hormona de crecimiento humana (HGH) para éste ensayo está estimada en 0.5 ng/mL.

### Precisión

a. Precisión Intra Ensayo

La precisión dentro del ensayo fue determinada por duplicado en tres controles de suero diferentes en un ensayo. La variabilidad dentro del ensayo se muestra a continuación:

Muestra de Suero	1	2	3
Número de corridas	28	28	28
Media HGH (ng/mL)	6.93	12.92	31.17
Desviación Estándar	0.20	0.32	0.67
Coefficiente de Variación (%)	2.9%	2.5%	2.2%

b. Precisión Inter-Ensayo

La precisión entre corridas se determinó mediante mediciones repetidas de tres sueros control diferente en varios ensayos diferentes. La variabilidad entre ensayos se muestra a continuación:

Muestra de Suero	1	2	3
Número de corridas	28	28	28
Media HGH (ng/mL)	6.55	11.90	30.85
Desviación Estándar	0.21	0.52	0.91
Coefficiente de Variación (%)	3.2%	4.4%	3.0%

**Estudios de Recuperación y Linearidad****a. Recuperación**

Varias muestras de suero de pacientes con niveles de HGH conocidos se mezclaron y ensayaron por duplicado. El promedio de recuperación fue del 95.8%.

	<b>Concentración esperada (ng/mL)</b>	<b>Concentración observada (ng/mL)</b>	<b>% recuperación</b>
1.	2.10	2.13	101.4%
	3.17	2.88	90.9%
	3.44	3.51	102.0%
	0.97	10.5	108.2%
	1.57	1.50	95.5%
	<b>Promedio de Recuperación =</b>		<b>99.6%</b>
2.	3.70	3.16	85.4%
	9.02	8.38	92.9%
	3.74	5.59	96.0%
	4.94	4.41	89.3%
	<b>Promedio de Recuperación =</b>		<b>90.9%</b>

**Estudios de Recuperación y Linearidad****b. Linearidad**

Dos muestras de pacientes se diluyeron en serie con el estándar cero en un estudio de linearidad. El promedio de recuperación fue de 105.1%.

#	<b>Dilución</b>	<b>Conc. Esperada (ng/mL)</b>	<b>Conc. Observada (ng/mL)</b>	<b>% Recuperación</b>
1.	Sin diluir	--	66.53	--
	1:2	33.27	32.76	98.5
	1:4	13.63	14.37	105.4
	1:8	8.32	8.49	102.0
	1:16	4.16	4.23	101.7
	1:32	2.08	1.92	92.3
			<b>Avg. =</b>	<b>100.0%</b>
2.	Sin diluir	--	57.50	--
	1:2	28.75	29.18	101.5
	1:4	14.38	15.00	104.3
	1:8	7.19	7.98	111.0
	1:16	3.59	4.39	122.2
	1:32	1.80	2.01	111.9
			<b>Avg. =</b>	<b>110.2%</b>

**Especificidad**

Las siguientes sustancias fueron probadas para reactividad cruzada:



Hormona Probada	Concentración	Intensidad equivalente a hGH (ng/mL)
HCG (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 75/537)	100 mIU/mL	0
	62,000 mIU/mL	0
	500,000 mIU/mL	0
TSH (WHO 2 <sup>nd</sup> IRP 80/558)	125 µIU/mL	0
	250 µIU/mL	0
	500 µIU/mL	0
LH (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 68/40)	125 mIU/mL	0
	250 mIU/mL	0
	500 mIU/mL	0
FSH (WHO 2 <sup>nd</sup> IRP HMG)	125 mIU/mL	0
	250 mIU/mL	0
	500 mIU/mL	0
Prolactin (WHO 1 <sup>st</sup> IRP 75/504)	50 ng/mL	0
	100 ng/mL	0
	500 ng/mL	0.5

### Efecto gancho

No se observó efecto gancho en éste ensayo a concentraciones hasta 1,000 ng/mL de hGH.










### 17 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Resultados confiables y reproducibles se obtendrán cuando el procedimiento del ensayo se lleve a cabo con buenas prácticas de laboratorio y de acuerdo a las instrucciones de uso del inserto.
2. Los resultados obtenidos por el uso de éste kit deben utilizarse solo como un complemento de otros procedimientos diagnósticos y la información disponible del médico.
3. El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente producirá una mala precisión y lecturas de absorbancia falsamente elevadas.

## REFERENCIAS

1. Van Wyk, J.J. and Underwood, L.E. Growth Hormone Somatomedins and Growth Failure. Hospital Practice, 13:57; 1978.
2. Fisher, D.A., Evaluation of Anterior Pituitary Function in: Radioimmunoassay Manual. Ed. Nicholas, A.L. and Nelson, J.C.P. 3498 Nichols Institute, 1977.
3. Goldfine, I.D., Medical Treatment of Acromegaly. Annual Review of Medicine. 29:407; 1978.
4. Reichlin, S. et al. Hypothalamic Hormones. Annual Review of Medicine. 27:359; 1976.
5. Rimoin, D.L. and Horton, W.A. Short Stature. J. Pediatrics. 92:523; 1978.
6. Reiter, E., et. at., Variable estimates of serum growth hormone concentrations by different radioassay systems. J. Clin Endocrin. Metab., 66:68; 1988.
7. USA Center for Disease Control/National Institute of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1984.

**18 SÍMBOLOS USADOS CON LOS ENSAYOS DRG**

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	Italiano
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Para uso Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Numéro de catalogue	Número de catálogo	Numero di Catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	Numéro de lot	Número de lote	Numero di lotto
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeits-datum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
Distributed by	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
Content	Content	Inhalt	Conditionnement	Contenido	Contenuto
Volume/No.	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantité	Volumen/Número	Volume/Quantità