



Sistema de Prueba Hormona de crecimiento (hGH)

Código de producto: 1775-300

1.0 INTRODUCCIÓN

Uso Previsto: Determinación cuantitativa de la concentración de Hormona del Crecimiento humano mediante ensayo de quimioluminiscencia por microplacas.

2.0 RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

La Hormona del Crecimiento (hGH, somatotropina), secretada por la pituitaria anterior, es un polipéptido con dos puentes disulfuro de cadena interna, la cual circula libre o enlazada a una serie de proteínas unidas a GH. Se han identificado varias formas de la hormona del crecimiento.¹ Siendo la mayor la de un peso molecular de 22.000 daltons que contiene 191 residuos de aminoácidos. Una variante de 20.000 daltones, que posee todas las funciones biológicas conocidas de la GH, se ha reconocido también como una variante importante. Las acciones biológicas primarias de la hormona se encuentran en promoción directamente relacionadas con el crecimiento. La hormona GH ejerce su efecto directamente sobre órganos blancos tales como huesos y músculos e indirectamente a través de la liberación de somatomedinas, una familia de hormonas de crecimiento similares a la insulina (IGF), producidas en el hígado.² En particular la somatotropina C (IGF-1) es esencial para el desarrollo óseo durante la infancia.

La utilidad clínica de la medición de la hormona de crecimiento (GH) en niños, es útil para evaluar el desarrollo lineal de los huesos a lo largo de la placa epifsea. Los niveles anormalmente elevados conducen al gigantismo mientras que la ausencia total disminuye la tasa de crecimiento desde una tercera parte hasta la mitad de lo normal. En adultos, se han fusionado las placas del crecimiento epifiseo; así el exceso de GH produce gradualmente acromegalia, un engrosamiento de los huesos del cráneo, manos y pies.

En este método, el calibrador GH, la muestra del paciente o control se adicionan inicialmente a un pozo recubierto de streptavidina. Los anticuerpos monoclonales marcados con biotina y los marcados con enzimas (dirigidos contra epítopos claramente diferenciados del GH) son adicionados. La reacción entre los distintos anticuerpos GH y GH nativo formará un complejo en sándwich que se enlaza con la streptavidina que recubre el pozo.

Después de terminar el periodo requerido de incubación, el conjugado de enlace de anticuerpo de la enzima – hormona del crecimiento, es separado del conjugado no enlazado mediante aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo se cuantifica por reacción utilizando un sustrato adecuado para producir color.

El uso de varias referencias de suero de niveles conocidos de la hormona del crecimiento permite la construcción de una curva dosis respuesta en cuanto a actividad y concentración. A partir de la comparación con la curva de dosis respuesta se puede correlacionar la actividad de una muestra desconocida con la concentración de la hormona del crecimiento.

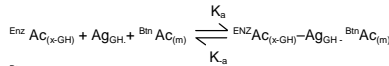
3.0 PRINCIPIO

Immunoensayo enzimométrico (TIPO 3)

Los reactivos esenciales requeridos para un immunoensayo enzimométrico incluyen anticuerpos altamente afines y específicos (enzima e inmovilizados), con reconocimiento de epítopos claramente diferenciados, **en exceso**, con antígenos nativos. De acuerdo con este

procedimiento, la inmovilización tiene lugar durante el ensayo en la superficie de los pocillos de la microplaca a través de la interacción de streptavidina que recubre el pozo y el anticuerpo anti-GH monoclonal marcado con biotina agregado en forma exógena.

Al mezclar el anticuerpo marcado con biotina monoclonal, el anticuerpo marcado con enzima y el suero que contiene el antígeno nativo, da lugar a una reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia u impedimentos estéricos, para formar un complejo soluble tipo sándwich. La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:



$\text{B}^{\text{m}} \text{AC}_{(m)}$ = Anticuerpo monoclonal Marcado con biotina (cantidad en exceso)

AG_{GH} = Antígeno nativo (cantidad variable)

$\text{ENZ AC}_{(e)}$ = Anticuerpo marcado con Enzima (Cantidad en exceso)

$\text{ENZ AC}_{(x\text{-GH})} - \text{AG}_{\text{GH}} - \text{B}^{\text{m}} \text{AC}_{(m)}$ = Complejo en sándwich

K_a = Tasa Constante de Asociación

K_d = Tasa Constante de Disociación

Simultáneamente el complejo se deposita en el pozo a través de la reacción de alta afinidad de la streptavidina y el anticuerpo marcado con biotina. Esta interacción se ilustra a continuación.

$\text{ENZ AC}_{(x\text{-GH})} - \text{AG}_{\text{GH}} - \text{B}^{\text{m}} \text{AC}_{(m)} + \text{Estrept}_{\text{CW}} \Rightarrow \text{Complejo inmovilizado}$.

$\text{Estrept}_{\text{CW}}$ = estreptavidina inmovilizada en el pozo.

Complejo inmovilizado = Complejo en sándwich ligado al pozo.

Después de lograr el equilibrio, la fracción anticuerpo unido se separa del antígeno no ligado mediante decantación o aspiración. La actividad enzimática en la fracción de anticuerpo unido será directamente proporcional a la concentración del antígeno nativo. Al utilizar varias referencias de sueros de valores conocidos de antígenos, se genera una curva de dosis respuesta a partir de la cual se evalúa la concentración de antígeno de una muestra desconocida.

4.0 REACTIVOS

Materiales suministrados:

A. Calibradores de la hormona de crecimiento – 1 ml/vial- Iconos A-F

6 viales de referencia para el antígeno hGH en suero humano a niveles de 0 (A), 2 (B), 10 (C), 25 (D), 50 (E) y 150 (F) $\mu\text{U/ml}$. Almacenar de 2-8°C. Un preservante ha sido adicionado. (Calibrado de acuerdo con la normatividad internacional WHO 2do IS # 98/574).

B. Reactivo trazador hGH – 13 ml/vial – icono E

Un (1) vial que contiene peroxidasa de rábano (HRP), marcado con un anticuerpo monoclonal de ratón con biotina IgG en una solución amortiguadora, colorante y preservante. Almacenar de 2-8°C.

C. Pozos para reacción de luz – 96 pozos – icono J

Una microplaca de 96 pozos recubierta con estreptavidina empaquetado dentro de una bolsa de aluminio con un agente desecante. Almacenar de 2-8°C.

D. Concentrado solución de lavado – 20 ml/vial – icono K

Un (1) vial que contiene un surfactante en solución salina amortiguada. Un preservante ha sido adicionado. Almacenar de 2-8°C.

E. Reactivo de Señal A – 7 ml/vial – icono CA

Un (1) vial que contiene luminol en solución tamponada. Almacenar de 2-8°C.

F. Reactivo de Señal B – 7 ml/vial – icono CB

Un (1) frasco que contiene Peroxido de Hidrógeno (H_2O_2) en solución tamponada. Almacenar de 2-8°C.

G. Instrucciones del producto

Nota 1: No usar reactivos más allá de la fecha de expiración

Nota 2: Evite la exposición prolongada al calor y a la luz. **Los reactivos abiertos son estables por 60 días cuando son almacenados a 2-8°C. La estabilidad del kit y sus componentes están identificados en la etiqueta.**

Nota 3: Ver el final de este inserto para varias configuraciones de reactivos por tamaño del kit. Vea el fin Todos los reactivos vienen para una microplaca de 96 pozos.

4.1 Requeridos Pero No Suministrados:

- Pipeta para dispensar volúmenes de 0.050ml (50 μl) con una precisión superior a 1.5%.
- Dispensadores para distribuciones repetitivas de 0.100ml y 0.350ml (100 y 350 μl) volúmenes a una precisión de 1.5%.
- Lavador de microplacas o frasco lavador (opcional)
- Luminómetro de microplacas
- Papel absorbente para secar los pozos de microplacas.
- Envoltura plástica o cubiertas de microplacas para los procesos de incubación
- Aspiradora al vacío (opcional) para los procedimientos de lavado.

- Cronometro
- Materiales para control de calidad

5.0 PRECAUCIONES

Para el uso Diagnóstico in Vitro
No para el Uso Interno ni Externo en Humanos o Animales

Todos los productos que contienen suero humano se encontraron no reactivos para el Antígeno de Superficie de la Hepatitis B, VIH 1 y 2 y anticuerpos para VHC por los reactivos licenciados por la FDA. Incluso no se ha conocido prueba que pueda ofrecer seguridad a pesar que los agentes infecciosos estén ausentes, todos los productos séricos de humanos serán manejados como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir enfermedades. Los procedimientos de laboratorio excelentes para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Centro de Control de Enfermedades/ Instituto Nacional de Salud, "Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", 2da Edición, 1988, HHS Publicación N° (CDC) 88-8395.

La Eliminación Segura de los componentes del kit deber realizarse de acuerdo a la regulación local y a los requerimientos estatutarios.

6.0 RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras deben ser sangre, suero y se deben emplear las precauciones en la recolección de muestras por punción venosa para las muestras de suero o sangre. Para lograr una comparación precisa a valores normales establecidos, se debe tomar una muestra de suero en ayunas. La sangre debe ser recolecta en tubo para punción venosa de tapa roja sin aditivos o anti-coagulantes. Dejar que la sangre se coagule y centrifugar la muestra para separar el suero de las células.

Las muestras se pueden refrigerar a 2-8°C por un tiempo máximo de 5 Días. Si la muestra(s) no pueden ser procesadas durante este tiempo, deben almacenarse a temperatura de -20°C hasta por 30 días. Evitar la congelación y descongelación repetidas. Cuando la prueba se realiza por duplicado, se requieren 0.100ml (100 μl) de la muestra.

7.0 CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio deberá ensayar controles a los niveles de rango bajo, normal y elevado para monitorear desempeño del ensayo. Estos controles serán tratados como valores desconocidos y los valores determinados en cada procedimiento de prueba realizada. Se mantendrán gráficos de control de calidad para efectuar un seguimiento del desempeño de los reactivos suministrados. Se deberán utilizar métodos estadísticos pertinentes para evaluar las tendencias. Las desviaciones significativas con respecto del desempeño establecido indicaran un cambio no detectado en condiciones experimentales o degradación de los reactivos del kit. Se deben utilizar reactivos frescos para determinar el motivo de la variación.

8.0 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

1. Buffer de Lavado

Diluir los contenidos del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada o desionizada en un contenedor de almacenaje adecuado. Almacenar a temperatura ambiente de 2-30°C hasta por 60 días

2. Solución de trabajo reactivo de señal - almacenar a 2-8°C

Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando porciones iguales del reactivo de señal A y reactivo de señal B en un recipiente limpio. Por ejemplo, adicionar 1ml de A y 1ml de B por cada 2 tiras de 8 pozos (se prepara pequeño exceso de solución). **Eliminar la reacción no utilizada, en caso de no emplearse dentro de las 36 horas a partir de mezclado.** Si se piensa utilizar totalmente los reactivos, dentro del límite de tiempo antes señalado, verter el contenido del reactivo de señal B dentro del reactivo de señal A y etiquetar según corresponda.

Nota: No use reactivos que estén contaminados o que tengan crecimiento bacteriano.

9.0 PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Antes de proceder con el análisis lleve todos los reactivos, las referencias séricas y los controles a temperatura ambiente (20-27°C).

****El procedimiento de la prueba deben ser desarrollado por personas expertas o profesionales entrenados****

- Marcar los pozos de la microplaca para cada calibrador, control y muestra de paciente para ser procesados por duplicado. **Colocar las tiras no utilizadas de micro pozos nuevamente dentro de la bolsa de aluminio, sellar y almacenar a 2-8°C.**
- Pipetear 0.050 ml (50 μl) de calibrador apropiado, control o muestra dentro del pozo asignado.
- Adicionar 0.100ml (100 μl) de solución de reactivo trazador de hGH a todos los pozos.

- Agitar suavemente la microplaca durante 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
- Incubar durante 45 minutos a temperatura ambiente.
- Eliminar el contenido de la microplaca mediante decantación o aspiración. Si decanta, secar la placa con papel absorbente.
- Adicionar 0.350ml (350 μl) de solución de lavado (ver Sección reparación de Reactivos), decantar, secar o aspirar. Repetir cuatro (4) veces más para obtener un total de cinco (5) lavados. **Se puede utilizar un lavador automático o manual de placas. Seguir las instrucciones del fabricante para asegurar el uso apropiado. Si se utiliza un frasco de lavado, llenar cada pozo oprimiendo el recipiente (evitar las burbujas de aire) para distribuir el lavado. Decantar el lavado y repetir cuatro (4) veces adicionales.**
- Adicionar 0.100 ml (100 μl) de la solución de trabajo – reactivo de señal a todas las pozos (Consultar la sección sobre Preparación de Reactivo). **Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.**
- NO AGITAR LA PLACA DESPUÉS DE LA ADICIÓN DE SOLUCIÓN**
- Incubar a temperatura ambiente durante cinco (5) minutos en la oscuridad.
- Leer las unidades relativas de luz (RLUs) en cada pozo, por un mínimo de 0.5-1.0 segundos, utilizando un luminómetro de microplacas. Los resultados deben leerse dentro de los 30 minutos a partir de la adición de la solución de trabajo

10.0 CÁLCULO DE RESULTADOS

Se utiliza una curva dosis respuesta para evaluar la concentración de la Hormona de crecimiento (hGH) en muestras desconocidas.

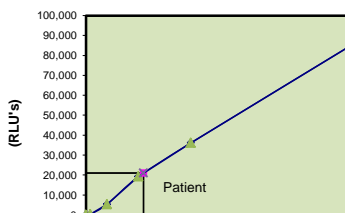
- Registrar las RLUs obtenidas de la impresión del luminómetro de microplacas como se muestra en el ejemplo 1.
- Graficar las RLUs para cada calibrador en duplicado vs. la concentración correspondiente hGH en ng/ml en papel lineal de gráficos (no promediar los duplicados de los calibradores antes de graficar).
- Trazar la mejor curva posible a través de los puntos graficados.
- Para determinar la concentración de hGH para una muestra desconocida, localizar las RLUs promedio de esta sobre eje vertical del grafico, encontrar el punto de intersección sobre la curva y lea la concentración (en $\mu\text{U/ml}$) a partir del eje horizontal del grafico (los duplicados de la muestra desconocida son promediados como se indica). En el siguiente ejemplo, el promedio de las RLUs (20937) intercepta con la curva dosis respuesta en 27.5 $\mu\text{U/ml}$ en concentración hGH (ver figura 1).

Nota 1: El software de reducción de datos diseñado para análisis CLIA puede ser usado para la reducción de datos. **Si se utiliza un software, la validación del software debe ser realizada**

EJEMPLO 1					
Muestra	I.D.	Numero De pozo	RLU (A)	Media RLU (B)	Valor ($\mu\text{U/ml}$)
Cal A		A1	10	10	0
		B1	9		
Cal B		C1	274	274	2.0
		D1	274		
Cal C		E1	5146	5215	10.0
		F1	5284		
Cal D		G1	18854	19228	25.0
		H1	19602		
Cal E		A2	35865	36073	50.0
		B2	36282		
Cal F		C2	101083	10000	150.0
		D2	98917		
Ctrl. 1		E2	5782	5706	10.5
		F2	5630		
Ctrl. 2		G2	46478	46981	62.9
		H2	47484		
Paciente		A3	20812	20937	27.5
		B3	21062		

Los datos presentados en el Ejemplo 1 y Figura 1 son ilustrativos únicamente y **no deben** ser usados en lugar de una curva de dosis respuesta procesada para cada ensayo. Adicionalmente los RLU de los calibradores han sido normalizados a 100.000 RLU para el calibrador F (mayor producción de luz). Esta conversión minimiza las diferencias causadas por las eficiencias de los diversos instrumentos que pueden ser utilizados para medir la luz.

Figura 1



11.0 PARÁMETROS DE C.C.

Con el fin de que se consideren validos los resultados del ensayo, se deberá cumplir con los siguientes criterios:

1. La curva dosis - respuesta debe ubicarse dentro de los parámetros establecidos.
2. Cuatro de los 6 pools de control de calidad deben ubicarse dentro de los rangos establecidos.

12.0 ANÁLISIS DE RIESGOS

Las fichas de seguridad (MSDS) y el Análisis de Riesgos de este producto están disponibles por requerimiento a Monobind Inc.

12.1 Desempeño del ensayo

1. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea sostenido en forma constante para resultados reproducibles.
2. El pipeteo de las muestras no se extenderá más de 10 minutos para evitar derivaciones.
3. No se deben emplear muestras altamente lipémicas, hemolizadas o contaminadas
4. Si más de 1 placa es usada, se recomienda repetir la curva dosis respuesta.
5. La adición de la solución de trabajo – reactivo de señal inicia una reacción cinética. Por tanto, la adición de la solución será adicionada en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación durante la reacción.
6. La falla en remover la solución adherente adecuadamente en los pasos de aspiración o lavado por decantación puede resultar en una pobre replicación y resultados falsos.
7. Usar componentes del mismo lote. No mezclar los reactivos de diferentes lotes.
8. Este inmunoensayo ha sido diseñado de tal forma que el denominado "Efecto gancho" de dosis elevada no sea un problema para el caso de muestras altas. Las muestras con concentraciones mayores 150 µIU/ml deberán ser diluidas y reprocesadas.
9. Los pacientes sometidos a tratamiento con hGH pueden desarrollar anticuerpos para el hGH los cuales pueden interferir en el ensayo causando valores bajos falsos. Las variantes genéticas o los productos de degradación pueden alterar las características de anticuerpos enlazados y afectar los resultados finales. Estas muestras pueden mostrar resultados no concordantes en diferentes ensayos que utilicen anticuerpos, los cuales reconocen diversos epítopes.
10. Es esencial un pipeteo preciso y exacto así como seguir el tiempo exacto y la temperatura requerida. Cualquier desviación de las instrucciones de uso puede arrojar resultados inexactos.
11. Se deben seguir las buenas prácticas de laboratorio todos los estándares nacionales aplicables, regulaciones y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.
12. Es importante calibrar todos los equipos, por ejemplo: pipetas, lectores, lavadores y/o instrumentos automatizados con este reactivo y realizar un mantenimiento preventivo rutinario
13. El análisis de riesgo – como lo requiere la directiva IVD 98/79/EC de la marca CE- para estos y otros dispositivos elaborados por Monobind, pueden ser solicitados vía e-mail: Monobind@monobind.com

12.2 Interpretación

1. Las mediciones y la interpretación de los resultados deben ser desarrollado por personas expertas o profesionales entrenados
2. Los resultados de laboratorio por si solos son únicamente un aspecto para determinar el cuidado del paciente y no deben ser la única base para una terapia, particularmente si los resultados están en conflicto con otros determinantes.
3. Los reactivos de este Sistema de prueba han sido formulados para eliminar al máximo las interferencias; sin embargo, el potencial de interacción entre las muestras raras de suero y reactivos de prueba pueden provocar resultados erróneos. Anticuerpos heterofílicos pueden causar este tipo de interacciones y suelen causar problemas en los inmunoensayos (Boscatto LM Stuart MC.

'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays' Clin. Chem. 1988;34:27-33). Para fines de diagnóstico, los resultados de este ensayo deben utilizarse en combinación con el examen clínico, la historia del paciente, y todos los otros hallazgos clínicos.

4. Para resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos listados y requerimientos del ensayo.
5. Si los kits de prueba están alterados, ya sea por mezcla de partes de diferente kits, lo cual puede producir resultados de prueba falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente, Monobind no tendrá responsabilidad.
6. Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por Computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los calibradores se ubiquen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
7. La secreción de la hormona del crecimiento sigue un ritmo circadiano caracterizado por descargas pulsátiles y discontinuas con períodos de intervención durante el día cuando los niveles de GH son indetectables. Los niveles mas elevados, en las dos horas después de la aparición del sueño. Otros estímulos fisiológicos de la hormona del crecimiento son el estrés, ejercicio, comidas de altas en proteínas e hipoglucemia.
8. La hiperglicemia inhibe la secreción de la hormona del crecimiento. La edad es un factor importante en las concentraciones de la hormona del crecimiento. En el momento del nacimiento, la GH es alta y por lo general desciende con la edad con excepción de un incremento en la producción durante la fase de crecimiento en la adolescencia. Las mujeres usualmente tienen un 50% de nivel mas elevado que los hombres a edades similares.
9. Debido a que la concentración de la hormona del crecimiento es pulsátil y esporádica durante el curso del día (en concordancia con su corta vida media), los niveles de la hormona en el suero tomados de forma aleatoria, no arrojan información clínicamente útil. Para evitar este inconveniente, se utilizan ensayos decisivos que utilizan estímulos fisiológicos o farmacológicos para inducir la secreción o inhibición del GH. Por estas razones, la determinación de la hormona del crecimiento por si sola no es suficiente para evaluar la condición clínica del paciente.

13.0 RANGOS Y VALORES ESPERADOS

Debido a la naturaleza pulsátil y esporádica de la secreción de la hormona del crecimiento, los intervalos de referencia para valores basales carecen de significación. Sin embargo, los niveles normales raras veces han sido reportados por enzima de 150 µIU/ml. Los pacientes en adecuadas condiciones de reposo y en ayunas (12 horas) deberán tener valores de hGH de 60 µIU/ml o menos.

Teniendo en cuenta esta condición, se estudiaron 75 adultos aparentemente saludables para determinar sus condiciones de inmunoensayo de la hGH. Los resultados se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1
Valores Esperados para hGH AccuBind® ELISA (en µIU/ml)

	N	Media	Rango
Muestras	75	9,1	0-55

Las pruebas indicadas para la respuesta de la hormona de crecimiento hGH se utilizan normalmente para tener acceso al funcionamiento de la pituitaria anterior. Los procedimientos estimulatorios miden la capacidad de secreción de la pituitaria anterior en la liberación del hGH. Los niños de los cuales se sospecha retardo en el crecimiento son pacientes comunes para someterlos a las pruebas estimulatorias. Se dispone de varios ensayos dinámicos para inducir la liberación de hGH: ejercicio,³ administración de L-dopa,⁴ prueba de tolerancia a la insulina,⁵ e administración de arginina.⁶ Cada laboratorio deberá evaluar la respuesta normal, sin embargo una liberación pico hGH por enzima de 24µIU/ml es probablemente normal para todos los casos.

Las pruebas inhibitorias miden la supresión de la liberación hGH a partir de la pituitaria anterior. Las pruebas inhibitorias son útiles para determinar el exceso de hormona de crecimiento y condiciones resultantes de gigantismo y acromegalia. El ensayo de tolerancia a la glucosa es una prueba dinámica para medir el exceso de hormona de crecimiento. La falla que presentan los niveles de hGH inferiores a 1µIU/ml dentro de los 60-120 minutos sugiere un exceso de secreción de hGH.

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de un rango de valores que puedan esperarse mediante la aplicación de un método dado para una población de personas "normales" dependerá de una serie de factores, entre los cuales están: especificidad del método, población estudiada y precisión del método que maneje el analista. Por estas razones cada laboratorio deberá utilizar el rango de valores esperados establecido previamente por el fabricante únicamente hasta cuando se puedan determinar rangos dentro del laboratorio por parte de

los analistas que utilicen el método, con una población local propia del área en la cual se encuentre ubicado el laboratorio.

14.0 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

14.1 Precisión

La precisión de inter e intra ensayo del sistema de prueba hGH AccuBind® ELISA se determino mediante análisis de 3 niveles diversos de suero control. En las tablas 2 y 3 se encuentra el número (N), valor medio (X), desviación estándar (σ) y el coeficiente de variación (C.V) para cada uno de estos sueros control.

Tabla 2
Precisión Intraensayo (Valores en µIU/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Nivel 1	24	12.57	0.30	2.4%
Nivel 2	24	28.73	0.78	2.7%
Nivel 3	24	62.79	1.55	2.5%

Tabla 3
Precisión interensayo* (Valores en µIU/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Nivel 1	14	10.54	1.11	10.5%
Nivel 2	14	23.99	1.20	5.0%
Nivel 3	14	55.04	3.23	5.9%

* Medición realizada en varios experimentos por duplicado.

14.2. Sensibilidad

El sistema de prueba hGH AccuBind® ELISA posee una sensibilidad de 0.006 µIU/pozo. Este valor es equivalente a una muestra que contenga 0.118 µIU/ml concentración de hGH. La sensibilidad analítica (límite de detección) fue establecido por determinación de la variabilidad del calibrador "0 mIU/ml" y usando estadística 2σ (95% de confianza) para calcular la dosis mínima.

14.3 Exactitud

Este sistema de prueba hGH AccuBind® ELISA se comparo con un ensayo inmuno de referencia. Las muestras biológicas tomadas de muestras normales y elevadas fueron probadas. El número total de estas muestras fue de 80. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación se calcularon para GH IEMA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se observan en la tabla 4.

Tabla 4

Método	Media (X)	Análisis de La última Regresión Cuadrática	Coefficiente de Correlación
Este método	14.5	y=1.03 + 0.121(x)	0.975
Referencia	14.1		

Existen un sesgo ligero entre el sistema de prueba hGH AccuBind® ELISA y el de referencia de acuerdo a los valores de medios obtenidos. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación indica que existe una perfecta concordancia entre los métodos.

14.4. Especificidad

La reactividad cruzada del sistema de prueba hGH AccuBind® ELISA con respecto de las sustancias seleccionadas se evaluó mediante la adición de la sustancia de interferencia a una matriz de suero a diversas concentraciones. Se calculo la reactividad cruzada de acuerdo al radio entre la dosis de la sustancia interferente con la dosis de hormona de crecimiento necesaria para producir la misma absorción.

Sustancia	Reacción cruzada
Hormona del crecimiento (GH)	1.0000
Hormona Luteinizante (LH)	< 0.0001
Hormona foliculo estimulante (FSH)	< 0.0001
Gonadotropina Coriónica(CG)	< 0.0001
Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH)	< 0.0001
Hormona Prolactina (PRL)	< 0.0001

15.0 REFERENCIAS

1. Lewis, UJ, et al, *Acta Paediatr*, 125, 399 (1994).
2. Henry, JD, *Clinical Diagnosis and Management of Laboratory Methods*, WB Saunders Company, 324 (1996).
3. Frasier, SD, *Pediatrics*, 53, 929 (1978).
4. Chevenne, D, et al, *Horm Res*, 40, 168 (1993).
5. Dattani, MT, et al, *J Endocrinol*, 133, 447 (1992).
6. Merimee, TJ, et al, *N Eng J Med*, 276, 434 (1967).
7. Kraemer RR, Blair MS, McCaferty R, Castracane VD, "Running-induced alterations in Growth hormone, Prolactin, Triiodothyronine, and Thyroxine concentrations in trained and untrained men and women", *Res Q Exerc Sport*, 64, 69-74 (1993).

8. Winer LM, Shaw MA, Baumann G. "Basal plasma growth hormone levels in man: new evidence for rhythmicity of growth hormone secretion", *J Clin Endocrinol Metab* 70, 1678-1686 (1990).
9. Van der Berg G, Veldhuis JD, Frölich M, Roelfsema F, "An amplitude-specific divergence in the pulsatile mode of growth hormone (GH) secretion underlies the gender difference in mean GH concentrations in men and premenopausal women", *J Clin Endocrinol Metab* 81, 2460-2467 (1996).
10. Albertsson-Wikland K, Rosberg S, Karlberg J, Groth T. "Analysis of 24-hour growth hormone profiles in healthy boys and girls of normal stature: relation to puberty", *J Clin Endocrinol Metab*, 78, 1195-1201 (1994).

Revisión: 3 Fecha: 032012 DCO 0641
Código de producto: 1775-300

Tamaño	96(A)	192(B)	
Reactivos (frenos)	A)	1 ml set	1 ml set
	B)	1 (13 ml)	2 (13 ml)
	C)	1 placa	2 placas
	D)	1 (20 ml)	1 (20 ml)
	E)	1 (7 ml)	2 (7 ml)
	F)	1 (7 ml)	2 (7 ml)

Para Órdenes y Consultas, por favor contáctese



Tel: +1 949.951.2665 Email: info@monobind.com
Fax: +1 949.951.3539 Web: www.monobind.com

Por favor visite nuestra página web para conocer más acerca de nuestros interesantes productos y servicios

