

hGH [I-125] IRMA KIT

RK-5CT. Estuche para 100 determinaciones

Ensayo inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa *in vitro* de la hormona de crecimiento humana (hGH) en suero, en el rango de 0-100 $\mu\text{IU/mL}$.

Introducción

La hormona de crecimiento humana (somatotropina, hGH) es una proteína de 22 kDa y 191 aminoácidos producida por la hipófisis anterior. Su estructura molecular es similar a la de la prolactina (hPRL) y el lactógeno placentario (hPL).

La secreción de la hGH está doblemente regulada por la acción estimulante de la hormona liberadora de hGH (GH-RH) y por la acción inhibitoria de la somatostatina (GH-RIH), ambas producidas en el hipotálamo.

La hGH ejerce importantes efectos fisiológicos. No solo regula el crecimiento óseo, muscular y tisular y la síntesis de proteínas, sino también tiene efectos lipolíticos y lactogénicos e influye el almacenamiento de glicógeno en el hígado. Además se conoce el efecto diabético de la somatotropina.

La concentración sérica de hGH decrece progresivamente después de los dos primeros meses de vida, se incrementa durante la pubertad para luego disminuir con el envejecimiento. Como la secreción de la hGH es pulsátil, una determinación única de su concentración no refleja la secreción endógena de la hormona. Aproximadamente el 50% de la población presenta concentraciones extremadamente bajas, a veces no detectables, por ello se necesitan pruebas de estimulación para examinar adecuadamente la secreción de la hGH.

La medición de la hGH tiene un amplio espectro de aplicación en la práctica clínica para el diagnóstico tanto de la deficiencia como del exceso en la secreción de hGH.

Principio del ensayo

Este ensayo utiliza el principio del análisis inmunoradiométrico (IRMA) en fase sólida. Para ello emplea dos anticuerpos monoclonales que reconocen dos epítopes diferentes de la molécula. Uno de ellos está marcado con radioyodo (anticuerpo "señal") y el otro, no marcado, funciona como anticuerpo "captura".

El inmunocomplejo formado por el antígeno con los dos anticuerpos ("sandwich") se inmoviliza en la superficie de los tubos de ensayo durante un período de incubación de 2 horas bajo agitación constante. Después se decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma. La radiactividad presente en los tubos es directamente proporcional a la concentración de la hormona presente en el sistema. Utilizando calibradores de concentración conocida de hGH se prepara una curva de calibración a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de hGH presente en las muestras.

Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco con 21 mL, listo para usar, < 740 kBq. Contiene anticuerpos monoclonales de ratón anti-hGH marcado con ^{125}I y anti-hGH biotinilado en solución tampón con 0,1 % NaN_3 y colorante rojo.

2. CALIBRADORES (S1-S6), 6 frascos con 1 mL de suero bovino liofilizado con 0,1% NaN_3 . Los calibradores contienen aproximadamente: 0; 0,3; 1,3; 5,5; 23; 100 $\mu\text{IU/mL}$ de hGH y han sido calibrados contra el estándar de referencia WHO 1st IS 88/624. La concentración de los calibradores está especificada en las etiquetas y en el certificado de calidad incluido.

3. SUERO CONTROL, 1 frasco, contiene 1 mL de suero humano liofilizado con 0,1% NaN_3 . La concentración del suero control está especificada en el certificado de calidad incluido.

4. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

5. SOLUCIÓN DE LAVADO, 1 frasco, contiene 20 mL de solución concentrada. Diluir con 700 mL de agua destilada. Contiene 0,2 % NaN_3 .

Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (50, 200 y 2000 μL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (200 y 2000 μL). Jeringa automática (dispensador) para el lavado.

Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis se efectuará dentro de las 24 horas siguientes a su recolección, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C hasta 4 meses. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

Preparación y conservación de los reactivos

Conservar los reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada componente es estable hasta la fecha de vencimiento del juego. La fecha de caducidad exacta se especifica en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad.

La solución concentrada de lavado debe diluirse con 700 mL de agua destilada. Así diluida esta solución se conserva entre 2 y 8 °C hasta la fecha de vencimiento del juego.

Los calibradores y el suero control se reconstituyen con 1 mL de agua destilada. Para ello se debe mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Permitir que la solución alcance la temperatura ambiente (20 a 30 °C) antes de su uso. Para usos posteriores, conservar bajo -20 °C hasta la fecha de vencimiento.

PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Homogenizar completamente todos los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

Procedimiento para el ensayo

(Ver Tabla 1.)

- Rotular los tubos recubiertos por duplicado para los totales (T), calibradores (S1-S6), suero control (C) y muestras (M).
- Añadir por duplicado 50 μL de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados.
- Añadir 200 μL de trazador en cada tubo.
- Fijar la gradilla con los tubos de ensayo firmemente en el agitador horizontal. Cubrir los tubos con una lámina de polietileno. Encender el agitador y ajustar la velocidad de manera tal que el líquido en los tubos esté rotando o agitándose constantemente. Incubar los tubos 2 horas en el agitador a temperatura ambiente.
- Añadir 2 mL de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
- Repetir dos veces el procedimiento de lavado según el punto 5.
- Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma y calcular la concentración de hGH en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S1-S6	C	M
Calibrador		50		
Control			50	
Muestra				50
Trazador	200	200	200	200
Agitar 2 horas a temperatura ambiente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Procesar los datos				

Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 y la figura 1 se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo.

Para los cálculos:

Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos. Restar de cada media el promedio de cpm obtenido para el calibrador de concentración cero (S1 = enlace no específico, NSB). Los valores así corregidos se dividen por la actividad total (T) como se muestra a continuación:

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

Construir una curva estándar ploteando las medias de cpm o, alternativamente, los valores B/T% contra la concentración de hGH de cada calibrador. Determinar la concentración de hGH en las muestras basándose en las respectivas

medias de cpm o en los valores B/T%, por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva.

Para el procesamiento automatizado de los datos, recomendamos el uso del programa de ajuste tipo spline, desarrollado especialmente para el análisis inmunoradiométrico. Existen programas que interpolan los valores que se encuentran entre el calibrador de concentración cero y el primer calibrador. Entre las concentraciones así calculadas, solo aquellas mayores al límite de detección del ensayo pueden considerarse como reales (ver sensibilidad)

Tabla 2. Resultados característicos del ensayo

Tubos	Conteos cpm	Media 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

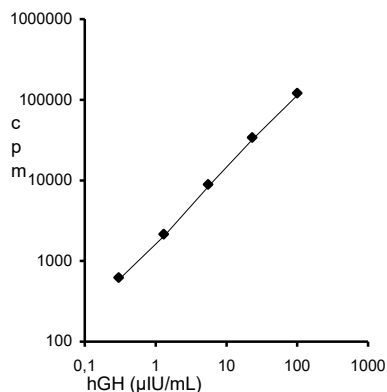


Figura 1.

Curva estándar típica (¡No utilizar para calcular concentraciones de las muestras!)

Características del ensayo

Sensibilidad

Los Límites del Blanco (LoB), de Detección (LoD) y de Cuantificación (LoQ) fueron determinados según la guía del CLSI, documento EP17-A2.

LoB = 0,03 µIU/mL

LoD = 0,06 µIU/mL

Sensibilidad funcional = LoQ = 0,19 µIU/mL.

Especificidad

Se observa una reacción cruzada con las hormonas hPL y hPRL de 0,2% y 1,0%, respectivamente. Otras hormonas no son detectables en concentraciones fisiológicas normales.

Precisión

La precisión intra-ensayo fue determinada a partir de 15 réplicas de 5 muestras, medidas en una serie. Para determinar la precisión inter-ensayo se midieron por duplicado 5 muestras, en 15 series independientes. Los valores obtenidos se muestran a continuación.

Intra-ensayo		Inter-ensayo	
Media (µIU/mL)	CV %	Media (µIU/mL)	CV %
1,4	3,5	1,4	5,1
2,1	2,5	2,1	4,4
5,1	1,0	5,1	4,5
11,0	1,5	11,1	3,2
54,8	1,5	53,0	4,1

Prueba de recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir concentraciones conocidas a 3 niveles de hGH a 3 muestras de suero diferentes. La recuperación obtenida fue de $97,2 \pm 2,75\%$ (media \pm SD).

Valores de referencia

Dada la variabilidad intra- e inter-individual de la secreción de hGH, la literatura atribuye un significado diagnóstico limitado al test basal y prefiere la evaluación de la respuesta de la hGH con pruebas de estimulación. Por lo tanto, se considera oportuno recordar que los valores basales de referencia (en el cuadro siguiente) son exclusivamente informativos. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

	Mujeres	Hombres
Número de muestras	100	100
Media (µIU/mL)	5.68	0.94
Mediana (µIU/mL)	1.03	0.17
Rango 95% de las muestras (µIU/mL)	0 – 30	0 - 6

Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición del hGH en suero humano.
- Los resultados de este análisis deben ser utilizados conjuntamente a la información clínica pertinente.
- Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.
- No se observa efecto Hook con el uso del presente producto en concentraciones de hGH hasta 10000 µIU/mL. Para cualquier muestra con una concentración en el intervalo entre 100-10000 µIU/mL se obtendrán valores superiores a 100 µIU/mL. Estas muestras deben ser diluidas con el calibrador de concentración cero y reanalizadas.

Notas acerca del procedimiento

1) **Fuente de error!** Los tubos recubiertos no están marcados individualmente. Se debe evitar la mezcla con tubos de ensayo comunes. Para minimizar este riesgo, no se deben sacar de la caja más tubos de los necesarios, de igual manera los tubos no utilizados en una serie deben ser guardados de nuevo en su caja. Se recomienda rotular los tubos con marcador permanente.

2) **Fuente de error!** Para asegurar la agitación eficiente de los tubos se debe utilizar una gradilla que los ajuste firmemente. Una agitación inadecuada puede provocar un rendimiento deficiente del ensayo y falsos resultados.

3) **Dosificación de la solución de lavado.** Para la adición de la solución de lavado se recomienda una jeringa automática o dispensador, equipado con un recipiente de 1 litro y un tubo flexible para la dosificación. En su ausencia puede utilizarse una pipeta automática apropiada.

¡Atención! ¡No mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante!

Precauciones

Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.

Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como *material potencialmente infeccioso*.

Todos los productos y derivados de origen animal provienen de animales saludables. No obstante, los componentes que contienen suero animal deben considerarse como *material potencialmente infeccioso*.

Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservativo. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 68 mg de NaN₃.



Fecha de vencimiento



Número de lote



Almacenar entre 2 y 8 °C



Suero Control



Precaución



Calibrador



Peligro biológico



Tubos recubiertos



Consulte las instrucciones



Trazador



Dispositivo para diagnóstico *in vitro*



Tampón de lavado



Fabricante



Material radiactivo

REF

Número de referencia



Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>

E-mail técnico: immuno@izotop.hu

E-mail comercial: commerce@izotop.hu

IZOTOP

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: +36 1 392-2577, Fax: +36 1 395-9247

Edición: Noviembre/2023



Anexo a las Instrucciones para el Uso, RK-5CT hGH [I-125] IRMA kit

Rangos pediátricos hGH ($\mu\text{IU/mL}$)

Niños

Edad	Muestras	Mediana	Mínimo medido	Máximo medido
3-4 años	40	1,86	0,19	16,0
5-6 años	40	0,87	0,16	23,6
7-8 años	37	0,75	0,08	38,7
9-10 años	35	0,64	0,04	31,5
11-12 años	34	0,47	0,07	19,1
13-14 años	31	0,78	0,12	38,7
15-16 años	28	0,39	0,13	28,7
17-18 años	31	0,37	0,08	38,7

Niñas

Edad	Muestras	Mediana	Mínimo medido	Máximo medido
3-4 años	27	1,98	0,33	17,5
5-6 años	30	1,3	0,19	28,0
7-8 años	33	0,66	0,05	20,7
9-10 años	34	0,71	0,1	17,2
11-12 años	36	1,03	0,18	36,7
13-14 años	39	0,68	0,16	21,6
15-16 años	41	3,65	0,15	41,2
17-18 años	37	3,56	0,19	41,5

Niños edad prepuberal (3-14 años)

Muestras	Mediana	Rango 97%
217	0,84	0,04 - 28

Niñas edad prepuberal (3-14 años)

Muestras	Mediana	Rango 97%
199	0,95	0,05 - 20

Niños edad puberal (15-18 años)

Muestras	Mediana	Rango 97%
59	0,37	0,08 - 28

Niñas edad puberal (15-18 años)

Muestras	Mediana	Rango 97%
78	3,61	0,15 - 40