



Instructions for Use

hGH IRMA (CT)

IVD

CE

REF RIA-3650

Σ 96



DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße 18, D-35039 Marburg
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50
Website: www.drg-diagnostics.de
E-mail: drg@drg-diagnostics.de



DRG International, Inc., USA
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556
Website: www.drg-international.com
E-mail: corp@drg-international.com

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.
Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.
Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella die Contenuti / Tabla de Contenidos

1	INTENDED USE.....	3
2	CLINICAL BACKGROUND	3
3	PRINCIPLES OF THE METHOD	3
4	REAGENTS PROVIDED	3
5	SUPPLIES NOT PROVIDED	4
6	REAGENT PREPARATION	4
7	STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS	4
8	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION.....	4
9	PROCEDURE	5
10	CALCULATION OF RESULTS.....	5
11	TYPICAL DATA.....	5
12	PERFORMANCE AND LIMITATIONS	6
13	LIMITATIONS.....	7
14	INTERNAL QUALITY CONTROL.....	7
15	REFERENCE INTERVALS	7
16	PRECAUTIONS AND WARNINGS	8

1	VERWENDUNGSZWECK.....	9
2	KLINISCHER HINTERGRUND	9
3	GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG	9
4	MITGELIEFERTE REAGENZIEN.....	10
5	ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL	10
6	VORBEREITUNG DER REAGENZIEN.....	10
7	AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	10
8	PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG	11
9	DURCHFÜHRUNG	11
10	BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	11
11	TYPISCHE WERTE	12
12	LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK	12
13	ANWENDUNGSGRENZEN	13
14	INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE	13
15	REFERENZ INTERVALLE	14
16	VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN.....	14

1	USO DEL KIT	15
2	INFORMAZIONI CLINICHE	15
3	PRINCIPIO DEL METODO	15
4	REATTIVI FORNITI.....	16
5	REATTIVI NON FORNITI.....	16
6	PREPARAZIONE DEI REATTIVI.....	16
7	CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI	16
8	RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI.....	17
9	METODO DEL DOSAGGIO	17
10	CALCOLO DEI RISULTATI.....	17
11	CARATTERISTICHE TIPICHE.....	18
12	CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO.....	18
13	LIMITAZIONI	19
14	CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO	19
15	INTERVALLI DI RIFERIMENTO.....	20
16	PRECAUZIONI PER L'USO	20

1	INSTRUCCIONES DE USO	21
2	INFORMACIÓN CLÍNICA.....	21
3	PRINCIPIOS DEL MÉTODO	21
4	REACTIVOS SUMINISTRADOS.....	22
5	MATERIAL NO SUMINISTRADO.....	22
6	PREPARACIÓN REACTIVOS.....	22
7	ALMACENAJE Y CADUCIDAD DE LOS REACTIVOS	22
8	RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS	23
9	PROTOCOLO	23
10	CALCULO DE RESULTADOS	23
11	EJEMPLO DE RESULTADOS	24
12	REALIZACIÓN Y LIMITACIONES.....	24
13	LIMITACIONES	25
14	CONTROL DE CALIDAD INTERNO	25
15	INTERVALOS DE REFERENCIA.....	26
16	PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS	26
17	BIBLIOGRAPHY.....	27
	SYMBOLS USED.....	28

1 INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the invitro quantitative measurement of human growth hormone (hGH) in serum.

2 CLINICAL BACKGROUND

2.1 Biological activities of hGH

hGH is a polypeptide hormone (molecular weight 21,500 Da) produced by the acidophil cells of the anterior pituitary under the control of two main substances from the median eminence : Growth-hormone Releasing Factor (GRF) and an inhibitory agent, somatostatin. Dopaminergic, adrenergic and serotonergic neuroendocrine pathways also play an important role in the control of hGH secretion. Excitatory stimuli of hGH secretion include hypoglycemia, exercise, fasting, meals with a high protein content, deep sleep, stress, glucagon, L Dopa, amino acids, etc. Inhibitory stimuli include glucose, cortisol, hGH and free fatty acids. Because of its short plasma half-life (± 25 minutes) and of the frequent excitatory or inhibitory stimuli, hGH displays frequent and large variations of concentration in serum.

One of the main physiological functions of hGH is to act on the liver and other tissues to produce Somatomedins, which in turn induce growth by direct action on target tissues. In contrast to hGH, the concentration of somatomedin in serum is kept stable by virtue of being largely bound to circulating plasma proteins.

2.2 Clinical application of hGH-IRMA

Growth retardation

hGH hyposecretion is one of the various causes of small stature in children. Serum hGH measurement with a highly sensitive assay, especially following a provocative stimulus (absence of response), is an important way to establish this diagnosis because this group of patients can be treated by administration of hGH.

Hypopituitarism

Serum hGH measurement is also an index of pituitary function when hypopituitarism (either idiopathic or due to tumour and surgery) is suspected.

Gigantism and acromegaly

Serum hGH measurement, especially following a provocative inhibitory test (absence of response), is an important way to establish the diagnosis of hGH hypersecretion due to acidophilic pituitary tumour. This results in gigantism in children and acromegaly in adults. Both of these disorders may be treated by surgery or radiation.

3 PRINCIPLES OF THE METHOD

The hGH-IRMA is an immunoradiometric assay based on coated-tube separation. Mab 1 - the capture antibody is attached to the lower and inner surface of the plastic tube. Standards or samples added to the tubes will at first show low affinity for Mab 1. Addition of Mab 2, the signal antibody labeled with ^{125}I , will complete the system and trigger the immunological reaction. After washing, the remaining radioactivity bound to the tube reflects the antigen concentration.

4 REAGENTS PROVIDED

Reagents		96 Test Kit	Reconstitution
Tubes coated with anti hGH (monoclonal antibodies)	TUBES	2 x 48	Ready for use
Tracer: ^{125}I odine labeled anti-hGH (monoclonal antibodies) in phosphate buffer with bovine serum albumin, azide (< 0.1%) and an inert red dye.	Ab ^{125}I	1 vial 5.5 mL 350 kBq	Ready for use
Zero calibrator (0 $\mu\text{IU}/\text{mL}$) in human plasma with thymol	CAL 0	1 vial lyophilized	Add 2 mL distilled water
Calibrators hGH N = 1 to 6 (see exact values on vial labels) in human plasma with thymol	CAL N	6 vials lyophilized	Add 0.5 mL distilled water
Wash Solution (NaCl, Tween 20)	WASH SOLN CONC	1 vial 40 mL	Dilute 20 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
Controls - N = 1 or 2 in human plasma with thymol	CONTROL N	2 vials lyophilized	Add 0.5 mL distilled water

Note : Use the zero calibrator for sample dilutions.

1 μIU of the calibrator preparation is equivalent to 1 μIU NIBSC 2nd IS 98/574.

5 SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

1. Distilled water
2. Pipettes for delivery of: 50 µL, 500 µL and 2 mL (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
3. Vortex mixer
4. Magnetic stirrer
5. 5 mL automatic syringe (Cornwall type) for washing
6. Aspiration system (optional)
7. Any gamma counter capable of measuring ^{125}I may be used (minimal yield 70%).

6 REAGENT PREPARATION

Calibrators:

Reconstitute the zero calibrator with 2.0 mL distilled water and other calibrators with 0.5 mL distilled water.

Controls:

Reconstitute the controls with 0.5 mL distilled water.

Working Wash solution:

Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 19 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (20x). Use a magnetic stirrer to homogenize.

Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

7 STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 °C to 8 °C.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable for one week at 2 °C to 8 °C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20 °C for 3 months. Avoid successive freezing and thawing.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well closed vial at 2 °C to 8 °C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

8 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum samples must be kept at 2 °C to 8 °C.

If the test is not run within 24 hours, storage at -20 °C is recommended.

Avoid successive freezing and thawing.

9 PROCEDURE

9.1 Handling notes

Do not use the kit or components beyond expiry date. Do not mix materials from different kit lots. Bring all the reagents to room temperature prior to use.

Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling. In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample.

High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision. Respect the incubation times.

Prepare a calibration curve for each run; do not use data from previous runs.

9.2 Procedure

1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, sample, and control.
For the determination of total counts, label 2 normal tubes
2. Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 50 µL of each into respective tubes.
3. Dispense 50 µL of ¹²⁵Iodine labeled anti-hGH into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
4. Shake the tube rack gently by hand.
5. Incubate for 2 hours at room temperature.
6. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
7. Wash tubes with 3 mL Working Wash solution (except total counts).
Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
8. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts).
9. Wash tubes again with 3 mL Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant).
10. After the last washing, let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
11. Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

10 CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. On semilogarithmic or linear graph paper plot the c.p.m. (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of hGH (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points, reject the obvious outliers.
3. Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve.
4. Computer assisted data reduction will simplify these calculations. If automatic result processing is used, a 4 parameter logistic function curve fitting is recommended.

11 TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

hGH-IRMA	cpm	B/T (%)
Total count	126065	
Standard 0 µIU/mL	241	0.19
1.0 µIU/mL	1254	0.99
2.4 µIU/mL	2743	2.18
8.0 µIU/mL	7817	6.20
25.5 µIU/mL	19515	15.48
59.1 µIU/mL	34310	27.22
119.9 µIU/mL	49965	39.63

12 PERFORMANCE AND LIMITATIONS

12.1 Detection limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators.

The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations above the average counts at zero binding, was 0.04 µIU/mL.

12.2 Specificity

Cross-reactive hormones were added to a low and to a high hGH value calibrator. The apparent hGH response was measured.

added Hormone	hGH CAL 1 µIU/mL	hGH CAL 5 µIU/mL
-	0.60	65
hCG 300000 mIU/mL	0.63	63
hPL 50000 ng/mL	0.69	68
PRL 2000 ng/mL	1.35	63

Note : this table shows the cross-reactivity for the hGH-IRMA.

12.3 Precision

INTRA-ASSAY				INTER-ASSAY			
Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (µIU/mL)	CV (%)	Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (µIU/mL)	CV (%)
A	6	6.7 ± 0.3	4.4%	A	20	3.8 ± 0.3	8.1%
B	6	19.0 ± 0.2	1.0%	B	20	17.9 ± 1.2	6.7%

SD : Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

12.4 Accuracy

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (µIU/mL)	Measured Concent. (µIU/mL)
Serum 1	1/1	-	35.6
	1/2	17.8	17.4
	1/4	8.9	8.8
	1/8	4.5	5.0
	1/16	2.2	2.4
	1/32	1.1	1.2

Sample was diluted with the zero calibrator.

Conversion factor: 1 µIU hGH-IRMA Calibrator = 0.33 ng

RECOVERY TEST

Sample	added hGH (μ IU/mL)	Recovered hGH (μ IU/mL)	Recovered (%)
Serum 1	5	5.1	102
	10	9.5	95
	25	24.7	99
	50	53.7	107
Serum 2	60	63	105
	40	46.8	117
	20	22.1	111
	10	10.2	102
	5	4.8	96

12.5 Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 30 minutes after the calibrator has been added to coated tubes.

TIME DELAY

Serum (μ IU/mL)	0'	15'	30'
Serum 1	4.4	4.5	4.8
Serum 2	18.8	18.1	19.3
Serum 3	27.6	26.2	27.0
Serum 4	36.5	36.8	36.6

12.6 Hook effect

A sample spiked with hGH up to 4000 μ IU/mL gives a signal above the highest calibrator concentration.

13 LIMITATIONS

- Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits which employ mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with in vitro immunoassays.
Patients routinely exposed to animals or animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed in case of the presence of heterophilic antibodies. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.
If results are not consistent with other clinical observations, additional information should be required before diagnosis.

14 INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practices.

15 REFERENCE INTERVALS

These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

In normal subjects, growth hormone (hGH) secretion is pulsatile. During day-time, hGH concentrations range from <0.2 - 10 μ IU/mL. During sleep, hGH concentrations increase consistently (\pm 30 μ IU/mL).

hGH secretion is greatly stimulated by exercise and stress (venous puncture, hypoglycemia, ...), but is decreased by hyperglycemia.

In normal subjects (n=34), two hours after oral glucose load (75 g in adults), hGH levels were lower than 10 μ IU/mL and the hGH response to stimulation tests (insulin, arginine, glucagon administration) exceeded 20 μ IU/mL.

hGH levels were elevated (even after glucose load) in acromegaly (> 10 μ IU/mL).

In hGH deficiency, the response to stimulation test is absent or blunted (short stature by hGH deficiency; hypopituitarism from various origins).

16 PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For in vitro diagnostic use only.

This kit contains ^{125}I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, or serum specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A log book for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiosafety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

1 VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative in vitro Bestimmung von humanem Wachstumshormon (hGH) in Serum.

2 KLINISCHER HINTERGRUND

2.1 Biologische Aktivität von hGH

hGH ist ein Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 21.500 Da. Synthetisiert in den azidophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens (HVL) erfolgt die Ausschüttung unter der Kontrolle von Somatotropin-Releasing-Faktor (GRF) und Somatostatin als inhibierendem Agens. Neurotransmitter wie Dopamin, Adrenalin und Serotonin spielen ebenfalls eine wichtige Rolle in der hGH-Sekretion. Stimulierend auf die hGH-Ausschüttung wirken Hypoglykämie, Sport, Fasten, Nahrung mit hohem Proteingehalt, Schlaf, Stress, Glucagon, L-Dopa, Aminosäuren, usw. Glucose, Cortisol, hGH und freie Fettsäuren hingegen hemmen die Freisetzung von hGH. Neben der kurzen Halbwertszeit von hGH (\pm 25 Minuten) ist die Vielzahl der die Ausschüttung beeinflussenden Faktoren für die häufige und große Variationsbreite der hGH-Spiegel im Serum verantwortlich.

Eine der Hauptwirkungen von hGH ist die Induktion der Somatomedin-Produktion in Leber und anderen Geweben. Somatomedine beeinflussen das Wachstum durch direkte Wirkung auf die entsprechenden Zielorgane. Im Gegensatz zu hGH bleibt die Somatomedin-Konzentration im Serum durch die weit gehende Bindung an zirkulierende Plasmaproteine stabil.

2.2 Klinische Anwendung der hGH-Bestimmung

Minderwuchs

Zu geringe hGH-Ausschüttung ist eine der möglichen Ursachen für Minderwuchs bei Kindern. Die Bestimmung von hGH im Serum nach einem Provokationstest (ausbleibende Reaktion) mittels eines sehr sensitiven Tests ist eine wichtige Methode zur Identifizierung solcher Patientengruppen, da diese Patienten durch Gabe von hGH sehr gut therapiert werden können.

Hypopituitarismus

Die Bestimmung von hGH im Serum gibt auch einen Hinweis auf die Hypophysenfunktion, falls eine Hypophysenunterfunktion (entweder idiopathisch oder bedingt durch einen Tumor oder chirurgischen Eingriff) vermutet wird.

Gigantismus und Akromegalie

Die hGH-Bestimmung im Serum vor allem nach einem Inhibitionstest (ausbleibende Reaktion) ist wesentlicher Bestandteil der Diagnose einer tumorbedingten hGH-Überproduktion. hGH-Überproduktion führt bei Kindern zu Riesenwuchs, bei Erwachsenen zu Akromegalie. Beide Erkrankungen können durch einen chirurgischen Eingriff oder Bestrahlung therapiert werden.

3 GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Der DRG hGH-IRMA ist ein Radioimmuno-Assay in beschichteten Röhrchen. Mabs1, die Fänger-Antikörper, haften an der unteren inneren Oberfläche des Plastikröhrchens. In die Röhrchen zugegebene Kalibratoren oder Proben zeigen zuerst eine niedrige Affinität zu Mabs1. Zugabe von Mab2, des mit ^{125}I markierten Signalantikörpers, vervollständigt das System und triggert die immunologische Reaktion. Nach dem Waschen gibt die verbleibende, an den Röhrchen haftende Radioaktivität die Antigenkonzentration wieder.

4 MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien		96 Test Kit	Rekonstitution
Mit anti hGH- beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	TUBES	2 x 48	gebrauchsfertig
Tracer: ¹²⁵ Iodmarkierter Anti-hGH (monoklonale Antikörper) in Phosphatpuffer mit Rinderserum- albumin, Azid (<0,1%) und inertem roten Farbstoff	Ab ¹²⁵ J	1 Gefäß 5,5 mL 350 kBq	gebrauchsfertig
Null-Kalibrator in Humanplasma mit Thymol	CAL 0	1 Gefäß lyophil.	2 mL dest. Wasser zugeben
Kalibrator - N = 1 to 6 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Humanplasma mit Thymol	CAL N	6 Gefäße lyophil.	0,5 mL dest. Wasser zugeben
Waschlösung (NaCl, Tween 20)	WASH SOLN CONC	1 Gefäß 40 mL	20 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
Kontrollen - N = 1 or 2 Humanplasma mit Thymol	CONTROL N	2 Gefäße lyophil.	0,5 mL dest. Wasser zugeben

Bemerkung: Benutzen Sie Null-Kalibrator zur Probenverdünnung.
1 µIU der Standardzubereitung ist äquivalent zu 1 µIU NIBSC 2nd IS 98/574.

5 ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, wird aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

1. Dest. Wasser
2. Pipetten: 50 µL, 500 µL und 2 mL (Verwendung von Präzisionspipetten mit Wegwerf-Plastikspitzen wird empfohlen)
3. 5 mL automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen
4. Absaugsystem (optional)
5. Vortex Mixer
6. Magnetrührer
7. Jegl. Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. (minimal Yield 70%)

6 VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Standards :

Rekonstituieren Sie den Standard 0 mit 2,0 mL dest. Wasser, die anderen Standards mit 0,5 mL dest. Wasser.

Kontrollen : Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 mL dest. Wasser.

Waschlösung:

Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (20x) mit 19 Anteilen dest. Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Verwerfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages.

7 AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

Vor dem Öffnen oder Rekonstitution sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2 °C bis 8 °C stabil.

Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren und Kontrollen bei 2 °C bis 8 °C, 7 Tage stabil. Aliquots müssen bei längerer Aufbewahrung bei -20 °C eingefroren werden während max. 3 Monaten. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.

Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Aufbewahrung im Originalgefäß und bei 2 °C bis 8 °C bis zum Ablaufdatum stabil.

Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

8 PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

Serumproben müssen bei 2 °C - 8 °C aufbewahrt werden.

Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung bei -20 °C erforderlich.

Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

9 DURCHFÜHRUNG

9.1 Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.

Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Wegwerf-Pipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.

Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Standardkurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

9.2 Durchführung

1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Standard, jede Probe und Kontrolle.
Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
2. Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie jeweils 50 µL in ihre Röhrchen.
3. Geben Sie 50 µL des Tracers in jedes Röhrchen.
4. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
5. Inkubieren Sie 2 Stunden bei Raumtemperatur
6. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
7. Waschen Sie die Röhrchen mit 3 mL Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
8. Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab.
9. Waschen Sie die Röhrchen mit 3 mL Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
10. Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
11. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter 60 Sekunden aus.

10 BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
2. Tragen Sie auf semilogarithmischem oder linearem Millimeterpapier den c.p.m. (Ordinate) für jeden Standard gegen die entsprechende Konzentration hGH (Abszisse) und zeichnen Sie eine Standardkurve durch die Standardpunkte, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
3. Berechnen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation aus der Standardkurve.
4. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer “4 Parameter”-Kurvenfunktion.

11 TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitstandardkurve verwendet werden.

hGH-IRMA	cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität	126065	
Standard 0 µIU/mL	241	0,19
1,0 µIU/mL	1254	0,99
2,4 µIU/mL	2743	2,18
8,0 µIU/mL	7817	6,20
25,5 µIU/mL	19515	15,48
59,1 µIU/mL	34310	27,22
119,9 µIU/mL	49965	39,63

12 LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

12.1 Nachweisgrenze

Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.

Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswerts bei Nullbindung, entsprach 0,04 µIU/mL.

12.2 Spezifität

Kreuzreaktive Hormone wurden zu je einem Standard mit geringer und einem mit hoher Konzentration zugegeben. Das scheinbare hGH-Ergebnis wurde gemessen.

zugegebenes Hormon	hGH CAL 1 µIU/mL	hGH CAL 5 µIU/mL
-	0,60	65
hCG 300000 mIU/mL	0,63	63
hPL 50000 ng/mL	0,69	68
PRL 2000 ng/mL	1,35	63

Bemerkung: Diese Tabelle zeigt die Kreuz-Reaktivität für hGH-IRMA.

12.3 Präzision

INTRA-ASSAY				INTER-ASSAY			
Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (µIU/mL)	CV (%)	Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (µIU/mL)	CV (%)
A	6	6.7 ± 0.3	4.4%	A	20	3.8 ± 0.3	8.1%
B	6	19.0 ± 0.2	1.0%	B	20	17.9 ± 1.2	6.7%

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

12.4 Genauigkeit

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünnung	Theoretische Konz.. (µIU/mL)	Gemessene Konz. (µIU/mL)
Serum 1	1/1	-	35,6
	1/2	17,8	17,4
	1/4	8,9	8,8
	1/8	4,5	5,0
	1/16	2,2	2,4
	1/32	1,1	1,2

Die Proben wurden mit Kalibrator Null verdünnt.

Umrechnungsfaktor:1 μ IU hGH-IRMA Kalibrator = 0,33 ng**WIEDERFINDUNGSTEST**

Probe	Zugegebenes hGH (μ IU/mL)	Wiedergefundenes hGH (μ IU/mL)	Wiederfindung (%)
Serum 1	5	5,1	102
	10	9,5	95
	25	24,7	99
	50	53,7	107
Serum 2	60	63	105
	40	46,8	117
	20	22,1	111
	10	10,2	102
	5	4,8	96

12.5 Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im Folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 30 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITVERZÖGERUNG

Probe (μ IU/mL)	0'	15'	30'
Serum 1	4,4	4,5	4,8
Serum 2	18,8	18,1	19,3
Serum 3	27,6	26,2	27,0
Serum 4	36,5	36,8	36,6

12.6 Hookeffekt

Eine Probe mit hGH bis zu 4000 μ IU/mL liefert höhere Messwerte als der letzte Kalibratormesswert.

13 ANWENDUNGSGRENZEN

- Proben von Patienten, die Zubereitungen von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Anti-Maus Antikörper (HAMA) enthalten. Solche Proben können entweder falsch erhöhte oder zu niedrige Werte ergeben, wenn sie mit Testsystemen getestet werden, die monoklonale Maus Antikörper enthalten.
- Heterophile Antikörper im humanen Serum können mit Immunglobulinen der Reagenzien reagieren und so mit in vitro Immunoassays interferieren.

Patienten, die routinemäßig Umgang mit Tieren oder Tierseren haben, können zu dieser Interferenz neigen und so können anormale Werte in Gegenwart von heterophilen Antikörpern beobachtet werden. Ergebnisse von Patienten, bei denen diese Antikörper vermutet werden, müssen sorgfältig evaluiert werden.

Wenn die Ergebnisse nicht mit anderen klinischen Beobachtungen übereinstimmen, sollten weitere Informationen vor der Diagnosestellung ermittelt werden.

14 INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.

Falls Extra-Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.

Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

15 REFERENZ INTERVALLE

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

Bei gesunden Personen erfolgt die hGH-Ausschüttung pulsatil. Tagsüber variiert die hGH-Konzentration von < 0,2 bis 10 µIE/mL. Im Schlaf steigt die hGH-Konzentration kontinuierlich an (\pm 30 µIE/mL).

Nach sportlichen Aktivitäten oder Stress (Blutentnahme, Hypoglykämie) werden hohe Werte, bei Hyperglykämie niedrige hGH-Spiegel gefunden.

Zwei Stunden nach Glucose-Belastung (75 g bei Erwachsenen) wurden bei gesunden Personen (n = 34) hGH-Spiegel < 10 µIE/mL, nach einem Stimulationstest (Insulin, Arginin, Glucagon) hGH-Spiegel > 20 µIE/mL gefunden.

Patienten mit Akromegalie zeigten selbst nach Glucose-Gabe erhöhte hGH-Werte (> 10 µIU/mL).

Bei hGH-Mangel kann keine oder nur verminderte Erhöhung der hGH-Spiegel nach Stimulation detektiert werden (Minderwuchs durch hGH-Mangel; Hypopituitarismus verschiedener Ursachen).

16 VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.

Dieser Kit enthält ^{125}I (Halbwertzeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35.5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausrüstung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in USA erprobten FDA Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien oder Serumproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.

Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschriften den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

1 USO DEL KIT

Kit radioimmunologico per la determinazione quantitativa in vitro dell'ormone della crescita (hGH) umano in siero.

2 INFORMAZIONI CLINICHE

2.1 Attività biologiche dell'hGH

L'hGH è un ormone polipeptidico (peso molecolare 21.500 Da) prodotto dalle cellule acidofile dell'ipofisi anteriore sotto il controllo delle due sostanze principali provenienti dall'eminenza media: il Fattore stimolante l'ormone della crescita (GRF, Growth-hormone Releasing Factor) e l'agente inibitorio Somatostatina. Nel controllo della secrezione di hGH, un ruolo importante viene inoltre attribuito ai circuiti neuroendocrini dopamnergici, adrenergici e serotonnergici. Gli stimoli eccitatori sulla secrezione di hGH includono ipoglicemia, esercizio, digiuno, pasti ad elevato contenuto proteico, sonno profondo, stress, glucagone, L Dopa, aminoacidi, ecc. Viceversa, gli stimoli inibitori includono glucosio, cortisolo, hGH e acidi grassi liberi. A causa della breve emivita plasmatica (\pm 25 minuti) e degli stimoli frequenti eccitatori o inibitori, le concentrazioni sieriche di hGH variano ampiamente e frequentemente.

Una delle principali funzioni fisiologiche dell'hGH è quella di agire sul fegato e sugli altri tessuti per produrre Somatomedine, che inducono successivamente la crescita per azione diretta sui tessuti bersaglio. A differenza dell'hGH, la concentrazione di somatomedina nel siero viene mantenuta stabile in quanto questa è ampiamente legata alle proteine plasmatiche circolanti.

2.2 Applicazioni cliniche di hGH-IRMA

Ritardo della crescita

L'iposecrezione dell'hGH è una delle varie cause della bassa statura nei bambini. La misurazione dell'hGH sierico con un test estremamente sensibile, soprattutto dopo uno stimolo provocativo (assenza di risposta), è un importante metodo per stabilire questa diagnosi affinché questo gruppo di pazienti possa essere trattato con la somministrazione di hGH.

Ipopituitarismo

La misurazione dell'hGH rappresenta anche un indice della funzione ipofisaria quando si sospetta una condizione di ipopituitarismo (idiomatico o secondario a neoplasia o chirurgia).

Gigantismo e acromegalìa

La misurazione sierica dell'hGH, in particolar modo dopo un test inibitorio provocativo (assenza di risposta), è un metodo importante per stabilire la diagnosi dell'ipersecrezione di hGH da tumore pituitario acidofilico. Questa condizione porta a gigantismo nei bambini e acromegalìa negli adulti. Ambedue le condizioni possono essere trattate con la chirurgia o con le radiazioni.

3 PRINCIPIO DEL METODO

Il kit hGH-IRMA è un dosaggio immunoradiometrico con separazione coated tube. Gli anticorpi di cattura, Mabs 1, sono adsorbiti sulla superficie interna della parte inferiore di provette di polistirene. Standard e campioni hanno dapprima una bassa affinità per i Mabs 1; l'aggiunta di anticorpi di segnale Mabs 2, marcati con ^{125}I , provocano un aumento di affinità per i Mabs 1 e l'inizio della reazione immunologica. Al termine dell'incubazione la radioattività non legata alla fase solida viene allontanata mediante lavaggio. La radioattività residua è direttamente proporzionale alla concentrazione di hGH in standard e campioni.

4 REATTIVI FORNITI

Reattivi		Kit da 96 test	Volume di ricostituzione
Provette sensibilizzate con anticorpo anti hGH (anticorpi monoclonali)	TUBES	2 x 48	Pronte per l'uso
Marcato, anti-hGH (Anticorpi monoclonali) marcati con ¹²⁵ I in tampone fosfato con BSA, sodio azide (<0,1%) e un colorante inerte rosso	Ab ¹²⁵J	1 flacone 5,5 mL 350 kBq	Pronto per l'uso
Calibratore zero in plasma umano contenente timolo	CAL 0	1 vial liofiliz.	Aggiungere 2 mL di acqua distillata
Calibratore 1-6 (le concentrazioni esatte degli calibratore sono riportate sulle etichette dei flaconi), in plasma umano contenente timolo	CAL N	6 flaconi liofiliz.	Aggiungere 0,5 mL di acqua distillata
Tampone di lavaggio (NaCl, Tween 20)	WASH SOLN CONC	1 flacone 40 mL	Diluire 20 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
Controlli: N = 1 o 2, in plasma umano contenente timolo	CONTROL N	2 flaconi liofiliz.	Aggiungere 0,5 mL di acqua distillata

Note: Usare zero Calibratore per diluire i campioni.

1 µIU della calibratore preparazione è equivalente a 1 µIU NIBSC 2nd IS 98/574.

5 REATTIVI NON FORNITI

Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.

1. Acqua distillata.
2. Pipette per dispensare 50 µL, 500 µL e 2 mL (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
3. Agitatore tipo vortex.
4. Agitatore magnetico.
5. Pipetta a ripetizione automatica 5 mL per i lavaggi.
6. Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
7. Contatore gamma con finestra per ¹²⁵I (efficienza minima 70%)

6 PREPARAZIONE DEI REATTIVI

A. Calibratore:

Ricostituire lo calibratore zero con 2,0 mL di acqua distillata e gli altri calibratore con 0,5 mL di acqua distillata.

B. Controlli:

Ricostituire i controlli con 0,5 mL di acqua distillata.

C. Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:

Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 19 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (20 x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

7 CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- I reattivi non utilizzati sono stabili a 2 °C - 8 °C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- Dopo ricostituzione, calibratore e controlli sono stabili 7 giorni a 2 °C - 8 °C e, suddivisi in aliquote a -20 °C per periodi più lunghi per 3 mesi al massimo.
- Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelamento dei campioni.
- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Dopo apertura del flacone, il marcato è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato a 2 °C - 8 °C nel flacone originale ben tappato.
- Alterazioni dell'aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

8 RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Conservare i campioni di siero a 2 °C - 8 °C.

Se non si desidera eseguire il dosaggio entro 24 ore dal prelievo, si raccomanda di conservare i campioni a -20 °C.

Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelamento dei campioni.

9 METODO DEL DOSAGGIO

9.1 Avvertenze generali

Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare reattivi di lotti diversi. Prima dell'uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente.

Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione. Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione.

L'uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio.

Rispettare i tempi di incubazione.

Allestire una curva di taratura per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di taratura di sedute analitiche precedenti.

9.2 Metodo del dosaggio

1. Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplice ogni standard, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.
2. Agitare brevemente su vortex standard, campioni e controlli. Dispensare 50 µL di standard, campioni e controlli nelle rispettive provette.
3. Dispensare 50 µL di marcato in tutte le provette.
4. Scuotere delicatamente il portaprovette per liberare eventuali bolle d'aria intrappolate nel liquido contenuto nelle provette.
5. Incubare 2 ore a temperatura ambiente.
6. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale, facendo attenzione che il puntale dell'aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
7. Lavare tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 3 mL di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
8. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale.
9. Lavare nuovamente tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 3 mL di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio e aspirare (o decantare).
10. Dopo il secondo lavaggio lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
11. Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

10 CALCOLO DEI RISULTATI

1. Calcolare la media delle determinazioni in duplice.
2. Costruire la curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica o lineare ponendo in ordinata le medie dei colpi per minuto (cpm) dei replicati degli standard e in ascissa le rispettive concentrazioni di hGH. Scartare i duplicati palesemente discordanti.
3. Determinare le concentrazioni e controlli per interpolazione sulla curva di taratura.
4. È possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.

11 CARATTERISTICHE TIPICHE

I sotto riportati sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di hGH in campioni e controlli al posto della curva standard, che va eseguita per ogni dosaggio.

hGH-IRMA	cpm	B/T (%)
Attività totale	126065	100
Calibratore	0 µIU/mL	0,19
	1,0 µIU/mL	0,99
	2,4 µIU/mL	2,18
	8,0 µIU/mL	6,20
	25,5 µIU/mL	15,48
	59,1 µIU/mL	27,22
	119,9 µIU/mL	39,63

12 CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

12.1 Sensibilità

Venti replicati dello standard zero sono stati dosati insieme agli altri standard.

La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con cpm pari alla media più 2 deviazioni standard di 20 replicati dello standard zero, è risultata essere 0,04 µIU/mL.

12.2 Specificità

Ormoni cross-reattivi sono stati aggiunti a un calibratore a bassa e ad elevata concentrazione di hGH.
È stata misurata la risposta apparente nel kit hGH.

Ormone aggiunto	hGH CAL 1 µIU/mL	hGH CAL 5 µIU/mL
-	0,60	65
hCG 300000 mIU/mL	0,63	63
hPL 50000 ng/mL	0,69	68
PRL 2000 ng/mL	1,35	63

Nota: questa tabella mostra la cross-reattività per hGH-IRMA.

12.3 Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (µIU/mL)	CV (%)	Siero	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (µIU/mL)	CV (%)
A	6	6.7 ± 0.3	4.4%	A	20	3.8 ± 0.3	8.1%
B	6	19.0 ± 0.2	1.0%	B	20	17.9 ± 1.2	6.7%

SD: Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

12.4 Accuratezza

TEST DI DILUZIONE

Campione	Diluizione	Concentrazione teorica (µIU/mL)	Concentrazione misurata (µIU/mL)
Serum 1	1/1	-	35,6
	1/2	17,8	17,4
	1/4	8,9	8,8
	1/8	4,5	5,0
	1/16	2,2	2,4
	1/32	1,1	1,2

I campioni sono stati diluiti con calibratore zero.

Fattore di conversione: 1 µIU hGH-IRMA Calibratore = 0,33 ng

TEST DI RECUPERO

Campione	hGH aggiunta (µIU/mL)	hGH recuperata (µIU/mL)	Recupero (%)
Serum 1	5	5,1	102%
	10	9,5	95%
	25	24,7	99%
	50	53,7	107%
Serum 2	60	63	105%
	40	46,8	117%
	20	22,1	111%
	10	10,2	102%
	5	4,8	96%

12.5 Tempo trascorso tra l'aggiunta dell'ultimo calibratore e il campione

Come mostrato nella seguente tabella, il dosaggio si mantiene accurato anche quando un campione viene aggiunto nelle provette sensibilizzate 30 minuti dopo l'aggiunta del calibratore.

TEMPO TRASCORSO			
Campione	0'	15'	30'
Serum 1	4,4	4,5	4,8
Serum 2	18,8	18,1	19,3
Serum 3	27,6	26,2	27,0
Serum 4	36,5	36,8	36,6

12.6 Effetto hook

Un campione ha cui è stata aggiunta hGH fino a 4000 µIU/mL ha cpm superiori a quello dello standard più concentrato.

13 LIMITAZIONI

- Campioni di pazienti che abbiano assunto preparazioni a base di anticorpi monoclonali murini a scopo diagnostico o terapeutico potrebbero contenere anticorpi umani antimurini (HAMA). Tali campioni, quando testati con metodiche basate sull'impiego di anticorpi monoclonali murini, potrebbero produrre valori falsamente elevati o ridotti.
- Nell'esecuzione di tecniche di immunodosaggio in vitro, la presenza in campioni di siero umano di anticorpi eterofili che possono reagire con immunoglobuline reattive può dar luogo ad interferenze.

Pazienti sistematicamente esposti al contatto con animali o con prodotti derivanti da siero animale possono essere oggetto di tale tipo di interferenza, con conseguente riscontro di risultati anomali in caso di presenza di anticorpi eterofili. Si raccomanda pertanto di valutare attentamente i risultati relativi ai pazienti con sospetta presenza di tale tipo di anticorpo.

Qualora i risultati non fossero in linea con le altre osservazioni cliniche si renderà necessaria la raccolta di ulteriori informazioni prima della formulazione di una diagnosi.

14 CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all'interno dei limiti riportati sull'etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente.
- Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote.
- I criteri di accettazione per la differenza tra i risultati doppi dei campioni devono riflettere la Buona prassi di laboratorio

15 INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Questi valori vengono dati solo come guida; ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli normali di valori.

Nei soggetti normali, la secrezione dell'ormone della crescita (hGH) è pulsatile. Durante il giorno, le concentrazioni di hGH variano tra <0,2 - 10 µIU/mL. Durante la notte, le concentrazioni di hGH aumentano notevolmente (\pm 30 µIU/mL).

La secrezione di hGH è fortemente stimolata dall'esercizio e dallo stress (venopuntura, ipoglicemia, ...), ma viene diminuita dall'iperglycemia.

Nei soggetti normali (n=34), due ore dopo un carico di glucosio orale (75 g negli adulti), i livelli di hGH erano più bassi di 10 µIU/mL e la risposta dell'hGH ai test di stimolazione (somministrazione di insulina, arginina, glucagone) superava i 20 µIU/mL.

I livelli di hGH erano elevati (persino dopo il carico di glucosio) nell'acromegalia (> 10 µIU/mL).

Nella carenza di hGH, la risposta al test di stimolazione è assente o attenuata (bassa statura per carenza di hGH, ipopituitarismo di varie origini).

16 PRECAUZIONI PER L'USO

Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro.

Il kit contiene ^{125}I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizzanti.

L'acquisto, a detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.

Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti d'infezioni.

Evitare ogni contatto dell'epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

1 INSTRUCCIONES DE USO

Kit para ensayo inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa in vitro de la hormona del crecimiento humana (human growth hormone, hGH) en suero.

2 INFORMACIÓN CLÍNICA

2.1 Actividades biológicas de hGH

hGH es una hormona polipeptídica (peso molecular 21,500 Da) producida por las células acidófilas de la hipófisis anterior bajo el control de dos importantes sustancias de la Eminencia media : factor liberador de hormona del crecimiento (GRF) y un agente inhibidor, somatostatina. Las vías neuroendocrinas dopamínérgica, adrenérgica y serotoninérgica también juegan un papel importante en el control de la secreción de hGH. Los estímulos excitatorios de la secreción de hGH incluyen hipoglicemia, ejercicio, ayuno, alimentos con alto contenido proteico, sueño profundo, estrés, glucagón, L Dopa, amino ácidos, etc. Los estímulos inhibitorios incluyen glucosa, cortisol, hGH y ácidos grasos libres. Debido a que su vida media en el plasma es corta (± 25 minutos) y a los frecuentes estímulos excitatorios o inhibidores, la hGH generalmente presenta una gran variación en la concentración sérica.

Una de las funciones fisiológicas más importantes de la hGH es actuar en el hígado y otros tejidos para producir somatomedinas, que a su vez inducen crecimiento actuando directamente sobre tejidos objetivo. Al contrario de hGH, la concentración de somatomedina en el suero se mantiene estable por encontrarse en su mayoría unida a proteínas plasmáticas.

2.2 Aplicación clínica de hGH

Retardo del Crecimiento

La hiposecreción de hGH es una de las diversas causas de la estatura baja en niños. Las mediciones de hGH en suero con un ensayo de alta sensibilidad, especialmente después de un estímulo provocador (ausencia de respuesta), es un modo importante de establecer un diagnóstico porque este grupo de pacientes puede ser tratado con la administración de hGH.

Hipopituitarismo

La medición de hGH en suero también es un índice de la función hipofisaria cuando se sospecha de hipopituitarismo (ya sea idiopático o debido a un tumor y cirugía).

Gigantismo y acromegalia

La medición de hGH en suero, especialmente después de una prueba inhibidora provocadora (ausencia de respuesta), es un modo importante de establecer un diagnóstico de hipersecreción de hGH debida a un tumor hipofisario acidófilico. Esto resulta en gigantismo en los niños y en acromegalia en los adultos. Ambos trastornos pueden tratarse con cirugía o radiación.

3 PRINCIPIOS DEL MÉTODO

hGH IRMA es un ensayo inmunoradiométrico basado en un tubo recubierto. Mab 1, el anticuerpo de captura, recubre la parte interna inferior del tubo de plástico. Los calibradores o muestras agregadas a los tubos manifestarán al principio una baja afinidad por Mab 1. La adición de Mab 2, el anticuerpo de señal marcado con ^{125}I , completa el sistema y desencadena la reacción inmunológica. Después de lavar, la radioactividad remanente en el tubo refleja la concentración del antígeno.

4 REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos		96 tests Kit	Reconstitución
Tubos recubiertos con anti hGH (anticuerpo monoclonal)	TUBES	2 x 48	Listo para usar
TRAZADOR: Anticuerpos monoclonales anti- hGH marcados con yodo 125 en tampón fosfato con albúmina de suero bovino, azida (<0,1 %) y colorante rojo inerte	Ab ¹²⁵I	1 vial 5,5 mL 350 kBq	Listo para usar
Calibrador Cero (0 µIU/mL) en plasma humano y timol	CAL 0	1 vial liofilizado	Añadir 2,0 mL de agua destilada
Calibradores N = 1 a 6 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en plasma humano y timol.	CAL N	6 viales liofilizados	Añadir 0,5 mL de agua destilada
Solución de lavado (NaCl, Tween 20)	WASH SOLN CONC	1 vial 40 mL	Diluir 20 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
Controles - N = 1 o 2 en plasma humano y timol.	CONTROL N	2 viales liofilizados	Añadir 0,5 mL de agua destilada

Nota: Use el calibrador cero para diluir muestras.

1 µIU de la preparación del calibrador es equivalente a 1 µIU NIBSC 2° IS 98/574.

5 MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no esta incluido en el kit

1. Agua destilada
2. Pipetas de 50 µL, 500 µL y 2 mL (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
3. Vortex
4. Agitador magnético
5. Jeringa automática 5 mL (tipo Cornwall) para el lavado
6. Sistema de aspiración (opcional)
7. Contador de radiaciones gamma para medir I¹²⁵ (mínima eficiencia 70%)

6 PREPARACIÓN REACTIVOS

A. Calibradores:

Reconstituya el calibrador cero con 2,0 mL de agua destilada y los otros calibradores con 0,5 mL de agua destilada.

B. Controles:

Reconstituya los controles con 0,5 mL de agua destilada.

C. Solución de lavado de trabajo:

Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 19 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (20x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

7 ALMACENAJE Y CADUCIDAD DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir o reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2 °C - 8 °C.
- Después de reconstituidos los calibradores y controles son estables por una semana a 2 °C - 8 °C.
Para períodos de almacenaje más largos, se deben preparar alícuotas y deben ser almacenadas a -20 °C por 3 meses. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Despues del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2 °C - 8 °C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad o deterioro.

8 RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de suero deben ser guardadas a 2 °C - 8 °C .

Si el ensayo no se realiza en 24 horas, almacenar las muestras a -20 °C.

Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

9 PROTOCOLO

9.1 Notas de manejo

No utilizar el kit o componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente número de lote.

Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.

Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente.

Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra.

El uso de pipetas de precisión o equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación.

Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

9.2 Protocolo

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los calibradores, muestras y controles.
Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
2. Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 50 µL de cada uno en sus respectivos tubos.
3. Dispensar 50 µL de Anti-hGH marcado con yodo¹²⁵ en cada tubo, incluyendo los tubos correspondientes a las Cuentas Totales.
4. Agitar suavemente con la mano la gradilla con tubos.
5. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.
6. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
7. Lavar los tubos con 3 mL de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales).
Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado.
8. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales).
9. Lavar los tubos nuevamente con 3 mL de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar).
10. Después del último lavado, dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el líquido restante.
11. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

10 CALCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Representar en un gráfico semilogarítmico o linear las c.p.m. (ordenada) para cada calibrador frente a las concentraciones de hGH (abscisa) y dibujar una curva de calibración por los puntos de calibración, rechazando los extremos claros.
3. Leer la concentración para cada control y muestra por interpolación en la curva de calibración.
4. Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de cálculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica "4 parámetros".

11 EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

hGH -IRMA		cpm	B/T (%)
Cuentas Totales		126065	
Calibrador	0 µIU/mL	241	0,19
	1,0 µIU/mL	1254	0,99
	2,4 µIU/mL	2743	2,18
	8,0 µIU/mL	7817	6,20
	25,5 µIU/mL	19515	15,48
	59,1 µIU/mL	34310	27,22
	119,9 µIU/mL	49965	39,63

12 REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

12.1 Límite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores.

El límite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares sobre la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,04 µIU/mL

12.2 Especificidad

Se agregaron hormonas de reacción cruzada a calibradores con valores de hGH altos y bajos. Se midió la respuesta aparente de hGH.

Hormona agregada	hGH CAL 1 µIU/mL	hGH CAL 2 µIU/mL
-	0.60	65
hCG 300000 mIU/mL	0.63	63
hPL 50000 ng/mL	0.69	68
PRL 2000 ng/mL	1.35	63

Nota : esta tabla muestra la reactividad cruzada para hGH-IRMA.

12.3 Precisión

INTRA-ENSAYO				INTER-ENSAYO			
Suero	N	$\bar{X} \pm SD$ (µIU/mL)	CV (%)	Suero	N	$\bar{X} \pm SD$ (µIU/mL)	CV (%)
A	6	6,7 ± 0,3	4,4%	A	20	3,8 ± 0,3	8,1%
B	6	19,0 ± 0,2	1,0%	B	20	17,9 ± 1,2	6,7%

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

12.4 Exactitud

TEST DE DILUCIÓN

Muestra	Dilución	Concent. Teórica (µIU/mL)	Concent. Medida (µIU/mL)
Suero 1	1/1	-	35.6
	1/2	17.8	17.4
	1/4	8.9	8.8
	1/8	4.5	5.0
	1/16	2.2	2.4
	1/32	1.1	1.2

Las muestras fueron diluidas con calibrador cero.

Factor de conversión: 1 µIU hGH-IRMA Calibradore = 0,33 ng

TEST DE RECUPERACIÓN

Muestra	Añadido hGH (μIU/mL)	Recuperado hGH (μIU/mL)	Recuperado (%)
Suero 1	5	5.1	102
	10	9.5	95
	25	24.7	99
	50	53.7	107
Suero 2	60	63	105
	40	46.8	117
	20	22.1	111
	10	10.2	102
	5	4.8	96

12.5 Retardo de tiempo entre dispensar el último calibrador y la muestra

Como se muestra a continuación, los resultados del ensayo no varían a pesar de que una muestra es dispensada 30 min. después que el calibrador ha sido agregado a los tubos plásticos.

RETARDO DE TIEMPO

Suero (μIU/mL)	0'	15'	30'
Suero 1	4.4	4.5	4.8
Suero 2	18.8	18.1	19.3
Suero 3	27.6	26.2	27.0
Suero 4	36.5	36.8	36.6

12.6 Efecto de gancho

Una muestra a la que se le agregó hGH hasta 4000 μUI/mL da una señal por sobre la concentración del calibrador más alto.

13 LIMITACIONES

- Las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o tratamiento pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden resultar en valores elevados o reducidos falsos al ser analizados con kits de ensayos que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón.
- Anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los reactivos, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro.

Pacientes que han sido expuestos en forma rutinaria a productos animales o del suero de animales, pueden estar predisponentes a esta interferencia y se pueden observar valores erróneos en el caso que existan anticuerpos heterofílicos. Evalúe cuidadosamente los resultados de los pacientes sospechosos de tener estos anticuerpos.

Si los resultados no son consistentes con otras observaciones clínicas, se deberá solicitar información clínica adicional antes de hacer un diagnóstico.

14 CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, los cuales se guardan en alícuotas congeladas. No congelar y descongelar más de dos veces.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados de los duplicados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

15 INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.

En sujetos normales la secreción de hormona del crecimiento (hGH) es pulsátil. Durante el día, las concentraciones de hGH fluctúan entre <0.2 - 10 µUI/mL. Durante el sueño, la concentración de hGH aumenta consistentemente ($\pm 30 \mu\text{UI}/\text{mL}$).

La secreción de hGH se estimula marcadamente por el ejercicio y el estrés (punción venosa, hipoglicemia, ...), pero disminuye con la hiperglicemia.

En sujetos normales (n=34), dos horas después de una sobrecarga oral de glucosa (75 g en adultos), los niveles de hGH eran inferiores a 10 µUI/mL y la respuesta de hGH a pruebas de estimulación (insulina, arginina, administración de glucagón) sobrepasó 20 µUI/mL.

Los niveles de hGH estaban elevados (incluso después de sobrecarga de glucosa) en acromegalía ($> 10 \mu\text{UI}/\text{mL}$).

En deficiencia de hGH, la respuesta a la prueba de estimulación está ausente o limitada (estatura baja por deficiencia de hGH; hipopituitarismo de varios orígenes).

16 PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I¹²⁵ (vida media: 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35,5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA u otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo substancias animales deberán ser considerados como potencialmente infecciosos.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer o utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetejar con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes. Todo el manejo de producto radiactivo se hará en un área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

17 BIBLIOGRAPHY

1. CAMANNI F., MASSARA F., BELFORTE L., ROSATELLO A., MOLENATTI G.M. (1977)
Effect of dopamine on plasma growth hormone and prolactin levels in normal and acromegalic subjects.
J. Clin. Endo. and Metab., 44:465.
2. DAUGHADAY W.H. (1981)
The adenohypophysis
In : "Textbook of Endocrinology", R.H. Williams ed., W.B. Saunders, Philadelphia, p;73.
3. DROBNY E.C., AMBURN K., BAUMANN G. (1983)
Circadian variation of basal plasma growth hormone in man.
J. Clin. Endo. and Metab., 57:524-528.
4. HASHIDA S., NAKAWAGA K., ISHIKAWA E., OHTAKI S. (1985)
Basal level of human growth hormone (hGH) in normal serum.
Clin. Chim. Acta, 151:185-186.
5. LEWIS V.J. et al. (1980)
Human growth hormone : A complex of proteins.
Rec. Progr. Horm. Res., 36:488.
6. LI C.H. (1974)
Human growth hormone : perspective on its chemistry and physiology.
In : "Advances in human growth hormone research", S. Raiti ed. U.S. Department of Health, Education and Welfare
Publ. DMEW publ. no. (NJH) 74-612, p. 321.
7. REUTENS AT. (1995)
**Evaluation and application of a highly sensitive assay for serum growth hormone (GH) in the study of adult
GH deficiency.**
J. Clin. Endocrinol. Metab., 80(2): 480-485
8. CROWLEY S. et al. (1995)
Growth and the growth hormone axis in prepubertal children with asthma.
J. Pediatr. 126(2): 297-303.
9. KELLY JT. et al. (1993)
**Effect of different oral oestrogen formulations on insulin-like growth factor I, growth hormone and growth
hormone binding protein in post-menopausal women.**
Clin. Endocrinol. 39(5) : 561-567

SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
	In vitro diagnostic medical device	In-vitro-Diagnostikum	Dispositivo medico-diagnóstico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico In vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Catalogue number	Katalognummer	Numero di Catalogo	Número de catálogo	Référence de catalogue
	Batch code	Chargenbezeichnung	Codice del lotto	Código de lote	Numéro de lot
	Contains sufficient for <n> tests	Ausreichend für <n> Prüfungen	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit	Temperaturgrenzwerte	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date	Verwendbar bis	Utilizzare prima del	Establa hasta	Utiliser jusque
	Manufacturer	Hersteller	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Distributor *	Vertriebspartner *	Distributore	Distribuidor	Distributeur
	Date of manufacture	Herstellungsdatum	Data di produzione	Fecha de fabricación	Date de production
	Biological risks	Biologische Risiken	Rischi biologici	Riesgos biológicos	Risques biologiques
	Caution	Achtung	Attenzione	Precaución	Attention
	Unique device Identifier	eindeutige Produktidentifizierung			
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Contenu
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité