

IMMULITE®

Growth Hormone (hGH)

For use on the IMMULITE®
and IMMULITE® 1000 systems

DPC®

IMMULITE®/IMMULITE 1000® Growth Hormone (hGH)

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of human growth hormone (hGH) in serum, as an aid in patient management.

Catalog Number: **LKGH1** (100 tests), **LKGH5** (500 tests)

Test Code: **GH** Color: **Light Gray**

CDC Analyte Identifier Code: **2547**

CDC Test System Identifier Code: **10159**

CLIA Complexity Category: **Moderate**

Summary and Explanation

Human growth hormone (hGH, somatotropin) is a polypeptide originating in the anterior pituitary. It is 191 amino acids in length and has a molecular mass of approximately 22,000 daltons. Its metabolic effects are primarily anabolic. It promotes protein conservation and engages a wide range of mechanisms for protein synthesis. It also enhances glucose transport and facilitates the buildup of glycogen stores. Another family of peptide hormones, the somatomedins, mediates its cascade of growth-promoting actions.¹

Measurement of hGH is primarily of interest in the diagnosis and treatment of various forms of inappropriate growth hormone secretion. Clinical disorders of hyposecretion include dwarfism and unattained growth potential. Hypersecretion is associated with gigantism and acromegaly.

Caution must be exercised in the clinical interpretation of growth hormone levels. These vary throughout the day, making it difficult to define a reference range or to judge an individual's status based on single determinations. Many factors are known to influence the rate of growth hormone secretion, including periods of sleep and wakefulness, exercise, stress, hypoglycemia, estrogens, corticosteroids, L-dopa, and others.¹ Because of its similarity to prolactin and placental lactogen, earlier growth hormone

immunoassays were often plagued with falsely high values in pregnant and lactating women.

Because not all acromegalic individuals have elevated baseline levels, suppression tests based on glucose loading are of value in this context. In spite of the induced hyperglycemia, there is rarely a decrease from baseline levels in acromegaly.²

Growth hormone-deficient individuals have fasting/resting levels similar to those found in healthy individuals. Various challenge tests have therefore been devised to differentiate these groups. Thus, with the onset of deep sleep or after 15 to 20 minutes of vigorous exercise, growth hormone levels normally show a rise. Other tests of growth hormone responsiveness are based on the administration of L-dopa, arginine and insulin. Propranolol or estrogen are sometimes given in conjunction with the primary stimulus to accentuate the response.^{4,5}

A small number of cases of dwarfism have been documented in which both the basal level and the response to challenge testing were normal. Such cases may involve tissue insensitivity to either growth hormone or the somatomedins, or the presence of antibodies or immunoreactive but biologically inactive growth hormone.⁴

Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 Growth Hormone is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

The solid phase (bead) is coated with murine monoclonal anti-hGH antibody. The reagent contains alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to a rabbit anti-hGH polyclonal antibody. The reagent and hGH in the sample are incubated together with a bead coated with a murine anti-hGH monoclonal antibody to form an antibody-sandwich complex. Unbound enzyme conjugate is then removed by a centrifugal wash. Finally, chemiluminescent substrate is added to the bead and signal is generated in proportion to the bound enzyme.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes.

Specimen Collection

Patient must be fasting and at complete rest 30 minutes before blood collection.^{6,7}

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Icteric or grossly contaminated samples may give erroneous results.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE/IMMULITE 1000 Growth Hormone has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 50 µL serum. (Sample cup must contain at least 100 µL more than the total volume required.)

Storage: Refrigerate immediately. Stable at 2–8°C for 8 hours,^{6,7} or for 2 months (aliquotted) at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

GH Test Units (LGH1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with murine monoclonal anti-hGH antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

LKGH1: 100 units. **LKGH5:** 500 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

GH Reagent Wedge (LGH2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to rabbit polyclonal anti-hGH antibody in buffer, with preservative. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

LKGH1: 1 wedge. **LKGH5:** 5 wedges.

GH Adjustors (LGHL, LGHH)

Two vials (Low and High) containing lyophilized hGH in nonhuman serum, with preservative. Reconstitute each vial with **3.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. Stable at 2–8°C for 30 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LKGH1: 1 set. **LKGH5:** 2 sets.

Kit Components Supplied Separately

GH Sample Diluent (LGHZ)

For the manual dilution of patient samples. 25 mL of processed nonhuman serum,

with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LSUBX: Chemiluminescent Substrate
LPWS2: Probe Wash Module
LKPM : Probe Cleaning Kit
LCHx-y: Sample Cup Holders (barcoded)
LSCP: Sample Cups (disposable)
LSCC: Sample Cup Caps (optional)

CON6: Tri-level, multi-constituent control

Also Required

Sample transfer pipets, distilled or deionized water, controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of growth hormone.

Expected Values

A study performed at a large reference laboratory in the western United States on 59 healthy adult males and 60 healthy adult females yielded the following reference intervals:

Males: Up to 1 ng/mL

Females: Up to 10 ng/mL

Secretion of growth hormone by the pituitary gland is episodic and pulsatile, and transient levels up to 40 ng/mL have been observed in healthy subjects. Because serum levels are rather low between pulses in healthy individuals, immunoassays with sufficient sensitivity are necessary to distinguish patients with abnormally low values from healthy subjects who have values that happen to fall in the low-normal range. Thus, basal or random levels of hGH provide little

diagnostic information. In some individuals, spontaneous growth hormone secretion is better monitored by using a continuous withdrawal pump, or by drawing specimens for hGH assay every 20 to 30 minutes over a 12-to-24-hour period. A number of provocative tests designed to stimulate or suppress release are also used to assess growth hormone secretion; the definition of abnormal responses varies with the laboratory.¹

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Patients on hGH therapy may develop human antibodies to hGH that will interfere in the assay and cause falsely low values.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Please note that beginning with **software versions 4.13 (IMMULITE) and 5.7b (IMMULITE 1000)**, the alternate units are in terms of WHO NIBSC 2nd International Standard 98/574 for r-DNA Growth Hormone, with a conversion factor of 2.4.

For previous software versions, the alternate units are in terms of WHO

NIBSC 1st International Standard 80/505, with a conversion factor of 2.6.

If customers reprint results generated on previous software versions, results will be expressed relative to WHO NIBSC 2nd International Standard 98/574 for r-DNA Growth Hormone.

Conversion Factor:

ng/mL × 2.6 → mIU/L WHO 1st IS 80/505
ng/mL × 2.4 → mIU/L WHO 2nd IS 98/574

Calibration Range: Up to 40 ng/mL
(Up to 104 mIU/L, WHO 1st IS 80/505)
(Up to 96 mIU/L, WHO 2nd IS 98/574)

Analytical Sensitivity: Up to 0.01 ng/mL
(0.026 mIU/L).

High-dose Hook Effect:

None up to 17,000 ng/mL.

Intraassay Precision (Within-Run):

Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

Interassay Precision (Run-to-Run):

Statistics were calculated for samples assayed in 11 different runs. (See "Interassay Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three growth hormone solutions (115, 230 and 476 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody used in the IMMULITE Growth Hormone procedure is highly specific for hGH, with low crossreactivity to other naturally occurring hormones. (See "Specificity" table.)

A second, smaller form of growth hormone (approximately 20,000 daltons) accounts for 15% of the total growth hormone content of the human pituitary. This form has the normal growth promoting activity, but lacks the insulin-like activity associated with the 22,000 dalton form. The 20 kDa form was tested for crossreactivity in the IMMULITE Growth Hormone assay and was found to crossreact to the extent of 63%.

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 100 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay. Levels of 200 mg/L interfere with

the assay, causing a slight depression of values. (See "Bilirubin" table.)

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 µL/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 15 volunteers into plain, heparinized, and Becton Dickinson SST[®] vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of hGH, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE Growth Hormone procedure.

(Heparin) = 0.99 (Serum) – 0.55 ng/mL
r = 0.982

(SST) = 0.92 (Plain Tubes) + 2.3 ng/mL
r = 0.975

Means:

26.1 ng/mL (Heparin)
25.8 ng/mL (Serum)
26.0 ng/mL (SST Tubes)

Method Comparison: The IMMULITE Growth Hormone procedure was compared to an immunoradiometric assay (Kit A) on 84 patient samples. (Concentration range: approximately 0.04 to 27 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML) = 0.92 (Kit A) + 0.47 ng/mL
r = 0.937

Means:

6.0 ng/mL (IMMULITE)
6.0 ng/mL (Kit A)

References

- 1) Whitley RJ, Meikle AW, Watts NB. Endocrinology. Part 2: Protein hormones. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: Saunders, 1994: 1665-70. 2) Daughaday WM, Cryer PE. Growth hormone hypersecretion and acromegaly. Hospital Practice. no. 8 August 1978;13:75-80. 3) Raite S. The standards for human growth hormone assays. In: Laron Z, Butenandt O, editors. Evaluation of Growth Hormone Secretion. Basel: Karger, 1983: 162-9. 4) Van Wyk JJ. Diagnosis of growth hormone deficiency and other causes of growth failure. The Endocrine Society: Syllabus for the 35th Annual Postgraduate Assembly October 1983: 90-106. 5) Van Wyk JJ, Underwood L. Growth hormone, somatomedins and growth failure. Hospital Practice no. 8 August 1978;13:57-67. 6) Tietz NW, editor. Clinical guide to laboratory tests. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders,

1995: 300. 7) Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994: 1670. 8) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Intraassay Precision (ng/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	1.7	0.09	5.3%
2	3.1	0.18	5.8%
3	7.8	0.47	6.0%
4	15	0.93	6.2%
5	31	2.0	6.5%

Interassay Precision (ng/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	3.0	0.17	5.7%
2	7.1	0.39	5.5%
3	9.3	0.58	6.2%
4	16	0.90	5.6%
5	18	1.1	6.1%

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	12	—	—
	4 in 8	5.1	6.0	85%
	2 in 8	2.6	3.0	87%
	1 in 8	1.5	1.5	100%
2	8 in 8	23	—	—
	4 in 8	11	12	92%
	2 in 8	5.1	5.8	88%
	1 in 8	2.7	2.9	93%
3	8 in 8	29	—	—
	4 in 8	14	15	93%
	2 in 8	6.3	7.3	86%
	1 in 8	3.2	3.6	89%
4	8 in 8	40	—	—
	4 in 8	21	20	105%
	2 in 8	9.9	10	99%
	1 in 8	4.5	5.0	90%

Recovery (ng/mL)

Sample	Spiking		Expected ³	%O/E ⁴
	Solution ¹	Observed ²		
1	—	7.5	—	—
	A	15	13	115%
	B	21	19	111%
	C	33	31	106%
2	—	8.2	—	—
	A	14	14	100%
	B	23	20	115%
	C	35	32	109%
3	—	23	—	—
	A	31	28	111%
	B	36	34	106%
	C	>40	46	—
4	—	26	—	—
	A	31	31	100%
	B	38	37	103%
	C	>40	49	—

Specificity

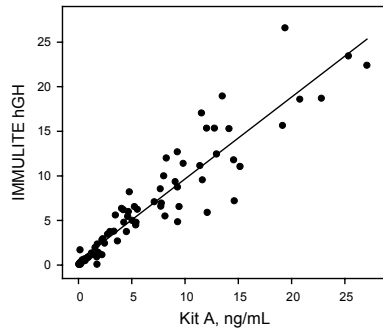
Compound ¹	ng/mL Added ²	Apparent Conc. ng/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
FSH	10,000	ND	ND
β-subunit HCG	10,000	ND	ND
HPL	10,000	ND	ND
LH	3,663	ND	ND
Prolactin	40,000	ND	ND
	10,000	ND	ND
	1,000	ND	ND
	200	ND	ND
TSH	11,125	0.941	0.0085%

ND: not detectable.⁵

Bilirubin

	Unspiked ¹	50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
1	7.4	7.1	7.4	5.9
2	12	11	11	9.3
3	21	21	19	17
4	28	27	24	24
5	33	34	31	29

Method Comparison



$$(IML) = 0.92 (\text{Kit A}) + 0.47 \text{ ng/mL}$$

$$r = 0.937$$

Deutsch. Intraassay Precision: ¹Mittelwert, ²S (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** ¹Mittelwert, ²S (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung,

²zugesetzte Menge, ³Ausgewiesene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. **Bilirubin:** ¹Ohne Zugabe von.

Method Comparison: Growth Hormone: hGH (humanes Wachstumshormon).

Español. Intraassay Precision: ¹Media, ²DS, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Media, ²DS, ³CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E.

Specificity: ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. **Bilirubin:** ¹Sin añadir.

Method Comparison: Growth Hormone: Hormona de Crecimiento.

Français. Intraassay Precision: ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A.

Specificity: ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %. ⁵ND: non détectable. **Bilirubin:** ¹Non chargés. **Method Comparison:** Growth Hormone: hGH.

Italiano. Intraassay Precision: ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision:** ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A.

Specificity: ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. **Bilirubin:** ¹Semplice, senza aggiunte. **Method Comparison:** Growth Hormone: hGH.

Português. Intraassay Precision: ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação.

Interassay Precision: ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Percentagem de reação cruzada, ⁵ND: não detectável. **Bilirubin:** ¹Não adicionada. **Method Comparison:** Growth Hormone: Hormona de crescimento.

Deutsch

hGH (humanes Wachstumshormon) IMMULITE®

Anwendung: Zur in vitro-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme –zur quantitativen Messung von humanem Wachstumshormon (hGH) im Serum, als

Hilfestellung in der Therapie- und Verlaufskontrolle.

Artikelnummern: **LKGH1** (100 Tests), **LKGH5** (500 Tests).

Testcode: **GH** Farbe: **hellgrau**

Klinische Relevanz

Humanes Wachstumshormon, Somatotropes Hormon (STH) oder Human-Growth-Hormon (hGH), ist ein einkettiges Proteohormon, das aus 191 Aminosäuren und 2 Disulfidbrücken besteht. Seine Molmasse beträgt ca. 22 000 Dalton. Die Synthese des Wachstumshormons findet in den Ribosomen der acidophilen somatotropen Zellen des Hypophysen-Vorderlappens statt. Dies geschieht unter dem stimulierenden Einfluß des im Hypothalamus gebildeten Growth-Hormon-Releasing-Hormons (GH-RH) über einen negativen Rückkoppelungsmechanismus. Die tägliche Produktionsrate beträgt beim Erwachsenen etwa 350 µg/24 Stunden.

Das hGH besitzt einen proteinanabolen Effekt. Es beeinflusst den Protein-, den Kohlenhydrat- und den Fettstoffwechsel, aber auch den Elektrolyt- und Wasserhaushalt. hGH führt zur Verminderung der Stickstoffausscheidung und dadurch zur positiven Stickstoffbilanz. Der Aminosäuretransport in der Zelle und der Einbau der Aminosäuren ins Eiweiß wird gefördert. Es stimuliert zudem die RNA-Polymeraseaktivität. Mediatoren der wachstumsfördernden Wirkung des hGH sind die Somatomedine, eine andere Gruppe von Peptidhormonen.¹

Die Bestimmung der Serum-hGH-Spiegel ist insbesondere von Bedeutung für Diagnose und Therapiekontrolle von Störungen der hGH-Sekretion. Klinische Bilder einer hGH-Hyposekretion sind Zwergwuchs und Minderwuchs. Resultat einer Hypersekretion von hGH sind Gigantismus und Akromegalie.²

Die klinische Interpretation von basalen hGH-Spiegeln kann nur mit äußerster Vorsicht erfolgen. Infolge des circadianen Rhythmus des hGH ist es äußerst schwierig, Referenzwerte zu definieren bzw. einzelne Basalwertbestimmungen zu interpretieren. Zahlreiche Faktoren, wie Schlaf, Schlaflosigkeit, körperliche

Belastung, Stress, Hypoglykämie, Östrogene, Kortikosteroide, L-Dopa u.a. können die hGH-Sekretion beeinflussen.¹ Wegen der Ähnlichkeit des hGH zu Prolaktin und HPL wurden mit älteren hGH-Assays bei schwangeren und stillenden Frauen oft falsch erhöhte hGH-Spiegel bestimmt.

Da nicht alle akromegalen Patienten erhöhte hGH-Basalwerte aufweisen, sind in diesen Fällen Glukose-Suppressionsteste von klinischer Bedeutung. Bei Gesunden kommt es nach oraler Glukosezufuhr zu einem Abfall der hGH-Konzentrationen auf nicht nachweisbare Werte. Bei Patienten mit Akromegalie ist hGH entweder nicht supprimierbar, oder es findet sich ein paradoxer Anstieg.

Patienten mit hGH-Mangel haben basale hGH-Spiegel, ähnlich denen von Gesunden. Zur Differentialdiagnostik des hGH-Mangels werden daher verschiedene Funktionsteste eingesetzt. So führt zum Beispiel eine körperliche Belastung von 15–20 Minuten bei Gesunden zu einem Anstieg der hGH-Spiegel. Andere Funktionsteste zur Überprüfung der hGH-Antwort basieren auf der Verabreichung von L-Dopa, Arginin oder Insulin. In manchen Fällen werden Propanolol oder Östrogene in Kombination mit dem primären Stimulus verabreicht, um die hGH-Antwort zu verstärken.^{4,5}

Es ist eine kleine Zahl von Patienten mit Zwergwuchs dokumentiert, die sowohl normale hGH-Basalwerte, als auch eine normale Antwort auf Funktionsteste zeigten. In solchen Fällen kann eine Unempfindlichkeit der Gewebe auf hGH oder die Somatomedine (IGFs) vorliegen, es können Antikörper vorhanden sein oder das gebildete hGH ist immunreaktiv, aber biologisch inaktiv.⁴

Methodik

IMMULITE/IMMULITE 1000 Wachstumshormon ist ein Festphasen, zwei Phasen-Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Die Festphase(Kugel) ist mit einem monoklonalen Maus-anti-hGH-Antikörper beschichtet. Das Reagenz enthält Alkalische Phosphatase (Rinderkalbsdarm), die an einen polyklonalen Kaninchen-anti-hGH

konjugiert ist. Das Reagenz und hGH aus der Probe werden gemeinsam mit einer mit monoklonalen Maus-anti-hGH-Antikörper beschichteten Kugel inkubiert um einen Antikörper-Sandwich-Komplex zu bilden. Unkonjugiertes Enzymkonjugat wird anschließend durch einen Zentrifugal-Waschschritt entfernt. Zuletzt wird Chemilumineszenz-Substrat zur Kugel hinzugefügt und das Messsignal wird im Verhältnis zum gebundenen Enzym gebildet.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten.

Probengewinnung

Die Patienten müssen nüchtern sein und 30 Minuten vor der Blutentnahme vollkommen ruhen.^{6,7}

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse zurückhaltend zu interpretieren.

Ikterische oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab.

IMMULITE/IMMULITE 1000 Wachstumshormon sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum. (Inhalt der Probenschale muss mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

Lagerung: Sofort kühlen. 8 Stunden bei 2–8°C haltbar^{6,7} oder 2 Monate bei –20°C (aliquotiert).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat: Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

GH- Testeinheiten (LGH1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine mit monoklonalem Anti-hGH-Mausantikörper beschichtete Kugel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

LKGH1: 100 Testeinheiten.

LKGH5: 500 Testeinheiten.

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Raumtemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante

aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

GH- Reagenzbehälter (LGH2)

Mit Barcode. 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes polyklonales anti-hGH (Hase) Antikörper in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Verschlossen und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Aufbrauchfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

LKGH1: 1 Behälter.

LKGH5: 5 Behälter.

GH- Kalibratoren (LGHL, LGHH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem hGH in nichthumanem Serum, mit Konservierungsmittel. Fläschchen mit je **3,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C oder 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

LKGH1: 1 Set.

LKGH5: 2 Sets.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

GH-Verdünnungspuffer (LGHZ)

Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. 25 ml prozessiertes nichthumanes Serum, mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

LSUBX: Chemilumineszenz-Substrat

LPWS2: Pipettenwaschlösung

LKPM: Pipettenreinigungssset

LCHx-y: Halterungen für die Probenschalen (mit Barcodierung)

LSCP: Probenschalen (Einwegartikel)

LSCC: Verschlüsse für die Probenschalen (optional)

CON6: Multikomponentenkontrolle in drei Konzentrationen.

Ebenfalls benötigt werden destilliertes bzw. deionisiertes Wasser, Teströhrchen und Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE oder IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für: Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen.

Proben zur Qualitätskontrolle:

Kontrollen oder Poolseren mit hGH in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

Eine Studie, durchgeführt in einem großen Referenzlabor im Westen der USA, mit 59 gesunden Männern und 60 gesunden Frauen ergab folgende Referenzbereiche:

Männer: bis 1 ng/ml

Frauen: bis 10 ng/ml

Die Sekretion des Wachstumshormons durch die Hypophyse erfolgt bei Gesunden episodisch und pulsatil mit GH-Spitzen bis 40 ng/ml. Da die GH-Serumspiegel zwischen den Pulsen Gesunder sehr niedrig sind, müssen Immunoassays mit ausreichender Sensitivität zwischen pathologisch niedrigen GH-Spiegeln von Patienten und GH-Spiegeln von Gesunden, die in den niedrig-normalen Bereich abgefallen sind, differenzieren können. Daher ermöglichen basale hGH-Spiegel nur eine eingeschränkte diagnostische Information. Bei einzelnen diagnostischen Fragestellungen kann die spontane GH-Sekretion besser durch die Verwendung eines kontinuierlich arbeitenden Blutabnahmesystems oder durch Blutentnahmen alle 20–30 Minuten über eine 12–24h-Periode überprüft werden. Eine Reihe von Provokationstesten (Stimulations- bzw. Suppressionsteste) werden ebenfalls eingesetzt, um Störungen in der GH-Sekretion zu überprüfen. Die Definition einer

abnormalen Testantwort differiert stark zwischen den einzelnen Laboratorien.¹

Diese Referenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Patienten unter hGH-Therapie können humane Antikörper gegen hGH bilden, die mit dem Assay interferieren und zu falsch erniedrigten Werten führen können.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als ng/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Bitte beachten Sie, dass mit der **Software Version 4.13 (IMMULITE) und 5.7b (IMMULITE 1000)** sich die alternativen Einheiten auf den internationalen WHO Standard NIBSC 2nd 98/574 für r-DNA Wachstumshormon beziehen. Der zugehörige Umrechnungsfaktor ist 2,4 (ng/ml × 2,4 → mIU/l).

Für die bisherigen Software Versionen beziehen sich die alternativen Einheiten auf den WHO-Standard NIBSC 1st 80/505. Hier ist der Umrechnungsfaktor 2,6.

Wenn der Anwender erneut Ergebnisse ausdrückt, die mit der bisherigen Software Version erstellt wurden, werden die Ergebnisangaben in Bezug auf den internationalen WHO-Standard NIBSC 2nd 98/574 für r-DNA Wachstumshormon ausgegeben.

Umrechnungsfaktor:

ng/ml × 2,6 → mIU/l WHO 1st IS 80/505
ng/ml × 2,4 → mIU/l WHO 2nd IS 98/574

Messbereich: Bis zu 40 ng/ml
(Bis zu 104 mIU/l, WHO 1st IS 80/505)
(Bis zu 96 mIU/l, WHO 2nd IS 98/574)

Analytische Sensitivität: 0,01 ng/ml
(0,026 mIU/l).

High-Dose-Hook-Effect:

Bis 17 000 ng/ml keiner.

Präzision im einzelnen Testansatz

(intraassay): Statistik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle "Intraassay Precision").

Präzision zwischen Testansätzen

(interassay): Statistik aus 11 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle "Interassay Precision").

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle "Linearity".)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei hGH-Lösungen (115, 230 und 476 ng/ml) 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle "Recovery".)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-hGH-Antikörper, mit geringer Kreuzreaktivität zu anderen natürlich vorkommenden Hormonen. (Siehe Tabelle "Specificity").

Etwa 15% des Gesamt hGH in der humanen Hypophyse liegen in einer kleineren Form (etwa 20 000 Dalton) vor. Diese hat auch wachstumsfördernde Aktivität, verfügt aber nicht über die Insulin-ähnliche Aktivität der 22 kD Form. Die Kreuzreaktivität zu der 20 kD Form beträgt 63%.

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 100 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist. Level von 200 mg/l können mit dem Assay interferieren und zu einer leichten Erniedrigung der Werte führen. (Siehe Tabelle "Bilirubin".)

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 15 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, und Becton Dickinson SST® Vacutainer-Röhrchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an Wachstumshormon versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE Assay für Wachstumshormon gemessen.

(Heparin) = 0,99 (Serum) – 0,55 ng/ml
r = 0,982

(SST) = 0,92 (einfachen Röhrchen) + 2,3 ng/ml
r = 0,975

Mittelwerte:
26,1 ng/ml (Heparin)
25,8 ng/ml (Serum)
26,0 ng/ml (SST)

Methodenvergleich: Der Assay wurde anhand von 84 Proben mit einem radioimmunometrischen Assay (Kit A) verglichen. (Konzentrationsbereich: 0,04 bis ca. 27 ng/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML) = 0,92 (Kit A) + 0,47 ng/ml
r = 0,937

Mittelwerte:
6,0 ng/ml (IMMULITE)
6,0 ng/ml (Kit A)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

Hormona de Crecimiento

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para la medición cuantitativa de hormona humana

del crecimiento (hGH) en suero, como ayuda en el seguimiento del paciente.

Números de Catálogo:

LKGH1 (100 tests), **LKGH5** (500 tests)

Código del Test: **GH** Color: **Gris claro**

Resumen y Explicación del Test

La hormona del crecimiento humana (hGH, somatotropina) es un polipéptido que se origina en la pituitaria anterior. Tiene 191 aminoácidos de longitud y un peso molecular de aproximadamente 22 000 daltons. Sus efectos metabólicos son principalmente anabólicos. Activa la conservación de la proteínas y participa en una amplia variedad de mecanismos de síntesis de proteínas. También mejora el transporte de glucosa y facilita la acumulación de almacenes de glucógeno. Otra familia de hormonas peptídicas, las somatomedinas, median en su cascada de acciones de activación del crecimiento.¹

La medida de hGH es de primordial interés en el diagnóstico y tratamiento de diversas formas de secreción inadecuada de la hormona del crecimiento. Entre los trastornos clínicos de hiposecreción se incluyen el enanismo y el potencial de crecimiento no alcanzado. La hipersecreción se asocia con gigantismo y acromegalia.

La interpretación clínica de los niveles de hormona del crecimiento debe hacerse con precaución. Estos niveles varían a lo largo del día, lo que hace difícil definir un intervalo de referencia o juzgar el estado de un individuo sobre la base de una sola determinación. Se sabe que hay muchos factores que influyen en la tasa de secreción de hormona del crecimiento, entre las que se incluyen los periodos de sueño y vigilia, el ejercicio, el estrés, la hipoglucemia, estrógenos, corticosteroides, L-dopa y otros.¹ Debido a su similitud con la prolactina y el lactógeno de la placenta, anteriores inmunoensayos de la hormona del crecimiento arrojaban a menudo valores erróneamente altos en mujeres gestantes y en periodo de lactancia.

Puesto que no todos los individuos acromegálicos tienen niveles de base elevados, los análisis de supresión

basados en carga de glucosa resultan valiosos en este contexto. A pesar de la hiperglucemia inducida, en la acromegalia raramente se produce un descenso de los niveles de base.²

Los individuos con déficit de hormona del crecimiento tienen niveles, en ayunas y descanso, similares a los de los individuos sanos. Se han ideado varios análisis de carga para diferenciar estos grupos. Así, al iniciarse el sueño profundo o bien después de 15 a 20 minutos de ejercicio vigoroso, los niveles de hormona del crecimiento suelen mostrar un aumento. Otros análisis de sensibilidad a hormona del crecimiento se basan en la administración de L-dopa, arginina e insulina. Para acentuar la respuesta se administra a veces propanolol o estrógeno junto con el estímulo primario.^{4,5}

Se han documentado algunos casos de enanismo en los que tanto el nivel basal como la respuesta a análisis de carga eran normales. En tales casos suele darse una insensibilidad tisular a la hormona del crecimiento o a las somatomedinas, o bien la presencia de anticuerpos o de hormona del crecimiento inmunorreactiva pero biológicamente inactiva.⁴

Principio del análisis

IMMULITE/IMMULITE 1000 Hormona de Crecimiento es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente de dos sitios de unión en fase sólida.

La fase sólida (bola) se encuentra recubierta con anticuerpo monoclonal de ratón anti hGH. El reactivo contiene fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugados con un anticuerpo policlonal de conejo anti-hGH. El reactivo y la hGH de la muestra son incubados junto con una bola recubierta con anticuerpo monoclonal de ratón anti-hGH para formar un complejo de anticuerpos tipo sandwich. El conjugado con enzima no unido es entonces eliminado mediante lavado y centrifugación. Finalmente, es añadido el sustrato quimioluminiscente a la bola y la señal es generada de manera proporcional a la cantidad de enzima unida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

El paciente debe estar descansado y en ayunas 30 minutos antes de la toma de la muestra.^{6,7}

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

Ictéricas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Hormona de Crecimiento IMMULITE/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativos.

Volumen Requerido: 50 µl suero. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido).

Conservación: Refrigerar inmediatamente. Estable a 2–8°C durante 8 horas,^{6,7} o hasta 2 meses (alícuotados) a –20°C.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si

fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas de código de barras son necesarias para el ensayo.

Unidades de análisis de GH (LGH1)

Cada unidad etiquetada con código de barras contiene una bola recubierta de anticuerpos monoclonales murinos anti-hGH. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

LKGH1: 100 unidades.

LKGH5: 500 unidades.

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

Vial de reactivo de GH (LGH2)

Con códigos de barras. 7,5 ml fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo policlonal de conejo anti-hGH en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

LKGH1: 1 vial. **LKGH5:** 5 viales.

Ajustadores de GH (LGHL, LGHH)

Dos viales (bajo y alto) de hormona de crecimiento hGH liofilizada en suero no humana, con conservante. Reconstituya cada vial con **3,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirlo, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

LKGH1: 1 juego. **LKGH5:** 2 juegos.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de GH (LGHZ)

Para la dilución manual de las muestras de los pacientes. Un vial que contiene 25 ml de suero no humana procesado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirlo, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

LSUBX: Sustrato quimioluminiscente

LPWS2: Lavado de sonda

LKPM: Kit de limpieza de sonda

LCHx-y: Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

LSCP: Recipientes de muestras (desechables)

LSCC: Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)

CON6: control multiconstituyente de tres niveles

También necesario

Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para: preparación, procesamiento, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visulamente cada unidad de rección para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Utilizar controles o pools de sueros con al menos dos niveles diferentes de hormona de crecimiento (bajo y alto).

Valores Esperados

Un estudio realizado en un laboratorio grande de referencia en el occidente de los Estados Unidos en 59 hombres adultos sanos y 60 mujeres adultas sanas rindió los siguientes intervalos de referencia:

Hombres: hasta 1 ng/ml

Mujeres: hasta 10 ng/ml

La secreción de hormona del crecimiento por parte de la glándula pituitaria es episódica y pulsátil, y se han observado niveles transitorios de hasta 40 ng/ml en sujetos sanos. Dado que en los individuos sanos los niveles en suero son bastante bajos entre pulsos, son necesarios inmunoensayos con sensibilidad suficiente para distinguir entre pacientes con niveles anormalmente bajos y paciente cuyos niveles caen en el intervalo de bajo a normal. Por lo tanto, los niveles basales o aleatorios de hGH ofrecen poca información de diagnóstico. En algunos individuos, la secreción espontánea de hormona del crecimiento se controla mejor por medio de una bomba de extracción continua, o bien extrayendo muestras para el ensayo hGH cada 20 a 30 minutos, durante un periodo de 12 a 24 horas. También se utilizan una serie de análisis de activación, diseñados para estimular o suprimir la producción, en la valoración de la secreción de hormona del crecimiento; la definición de las respuestas anormales varía con el laboratorio.¹

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

Los pacientes que se encuentran bajo tratamiento con hGH pueden desarrollar anticuerpos anti-hGH que interferirán en el ensayo y causarán valores falsamente bajos.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del

ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación).

Por favor, observe que a partir de las **versiones de software 4.13 (IMMULITE) y 5.7b (IMMULITE 1000)**, las unidades alternativas aparecen en términos del 2° IS (Estándar internacional) de la OMS NIBSC 98/574 para la Hormona de Crecimiento r-DNA, con un factor de conversión de 2,4 (ng/ml × 2,4 → mIU/l).

Para versiones anteriores de software, las unidades alternativas aparecen en términos del 1° IS de la OMS NIBSC 80/505, con un factor de conversión de 2,6.

Si el usuario vuelve a imprimir resultados generados en versiones anteriores de software, los resultados se expresarán en términos del 2° IS de la OMS NIBSC 98/574 para Hormona de Crecimiento r-DNA.

Factor de Conversión:

ng/ml × 2,6 → mIU/l WHO 1° IS 80/505

ng/ml × 2,4 → mIU/l WHO 2° IS 98/574

Rango de Calibración: Hasta 40 ng/ml (Hasta 104 mIU/l, WHO 1° IS 80/505) (Hasta 96 mIU/l, WHO 2° IS 98/574)

Sensibilidad: 0,01 ng/ml (0,026 mIU/l).

Efecto de gancho a altas dosis:
Ninguno hasta 17 000 ng/ml.

Precisión intraensayo (dentro de una tanda): Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Ver la tabla de "Intraassay Precision").

Precisión entre ensayos (de una tanda a otra): Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 11 tomas distintas. (Ver la tabla de "Interassay Precision").

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de "Linearity" para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de hGH (115, 230 y 476 ng/ml). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo utilizado en la técnica IMMULITE Hormona de Crecimiento es altamente específico para hGH, presentando muy poca reacción cruzada con otras hormonas presentes en condiciones normales. (Ver la tabla "Specificity").

Una segunda, y más pequeña forma de hormona de crecimiento (aproximadamente de 20 000 daltons) constituye el 15% de la hormona de crecimiento total de la pituitaria humana. Esta forma presenta la actividad inductora del crecimiento, pero carece de la actividad análoga de insulina de la molécula de 22 000 daltons. La forma de 20 kDa ha sido evaluada con el kit de IMMULITE Hormona de Crecimiento, encontrando una reactividad cruzada del 63%.

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 100 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión. Niveles de 200 mg/l interfieren con el ensayo, causando una ligera disminución de los resultados (Ver la tabla de "Bilirubin").

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 µl/ml no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 15 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, y tubos vacutainer SST® de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de hGH, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento Hormona de Crecimiento IMMULITE.

(Heparina) = 0,99 (Suero) – 0,55 ng/ml
r = 0,982

(SST) = 0,92 (tubos simples) + 2,3 ng/ml
r = 0,975

Medias:
26,1 ng/ml (Heparina)
25,8 ng/ml (Suero)
26,0 ng/ml (SST)

Comparación del Método: El ensayo se ha comparado con un radioinmunoensayo (Kit A) sobre 84 muestras. (Rango de Concentración: aproximadamente 0,04 a 27 ng/ml. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML) = 0,92 (Kit A) + 0,47 ng/ml
r = 0,937

Medias:
6,0 ng/ml (IMMULITE)
6,0 ng/ml (Kit A)

Asistencia técnica

Contáctese con su Distribuidor Nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE hGH

Domaine d'utilisation Dosage quantitatif de l'hormone de croissance humaine (hGH) dans le sérum. Réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les analyseurs IMMULITE et IMMULITE 1000, ce test constitue une aide pour la prise en charge thérapeutique du patient.

Référence catalogue : **LKGH1** (100 tests), **LKGH5** (500 tests)

Code produit : **GH** couleur : **gris clair**.

Introduction

L'hormone de croissance humaine (hGH) est un polypeptide produit par l'antéhypophyse. Elle compte 191 acides aminés pour une masse moléculaire de 22 000 daltons environ. Ses effets métaboliques sont essentiellement anabolisants. Elle favorise la conservation des protéines et stimule un vaste ensemble de mécanismes de la biosynthèse des protéines. Elle stimule également le transport du glucose et facilite l'accumulation de réserves de glycogène. Une autre famille d'hormones peptidiques, les somatomédines, médie la cascade des actions stimulant la croissance.¹

Le dosage de l'hGH présente surtout un intérêt pour le diagnostic et le traitement de différentes formes de sécrétion pathologiques de l'hormone de croissance. Les manifestations cliniques d'hyposécrétion comprennent le nanisme et un développement incomplet. L'hypersécrétion est associée au gigantisme et à l'acromégalie.

L'interprétation clinique des taux d'hormone de croissance est délicate. En effet, ils présentent une variation diurne qui rend difficile la définition d'un intervalle de référence ou l'appréciation du statut d'un individu à partir de dosages uniques. De nombreux facteurs sont connus pour influencer le rythme de sécrétion de l'hormone de croissance, parmi lesquels les périodes de sommeil et d'éveil, l'activité physique, le stress, l'hypoglycémie, les œstrogènes, les corticostéroïdes, la L-dopa et d'autres encore.¹ En raison de sa similitude avec la prolactine et l'hormone lactogène placentaire, les premiers immunodosages de l'hGH étaient souvent entachés de valeurs faussement élevées pour les femmes enceintes ou les femmes qui allaient.

Etant donné que les individus acromégales n'ont pas tous des taux de base élevés, une épreuve de freinage basée sur une charge de glucose est utile dans ce contexte. En dépit de cette hyperglycémie provoquée, on note rarement une diminution des taux de base initiaux dans l'acromégalie.²

Les individus qui présentent une insuffisance en hormone de croissance

ont des taux à jeun/ au repos similaires à ceux des individus en bonne santé. Des épreuves de confrontation variées ont été mises au point pour différencier ces groupes. Ainsi, avec la venue du sommeil profond ou après 15 à 20 minutes d'exercice physique vigoureux, les taux d'hormone de croissance enregistrent normalement une élévation. D'autres tests de la réactivité à l'hormone de croissance sont basés sur l'administration de L-dopa, d'arginine ou d'insuline. Le propranolol ou l'œstrogène sont parfois administrés en association avec le stimulus principal pour accentuer la réponse.^{4,5}

On a recensé un petit nombre de cas de nanisme pour lesquels les niveaux de base, comme la réponse aux épreuves de stimulation étaient normaux. De tels cas peuvent venir soit d'une insensibilité tissulaire à l'hormone de croissance ou aux somatomédines, soit de la présence d'anticorps ou d'hormone de croissance immunoréactive mais biologiquement inactive.⁴

Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 Hormone de Croissance est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide.

La phase solide (bille) est revêtue d'anticorps monoclonal murin anti-hGH. Le réactif contient un anticorps polyclonal de lapin anti-hGH conjugué à la phosphatase alcaline (intestins de veau). Le réactif et l'hGH contenue dans l'échantillon du patient sont incubés ensemble avec une bille revêtue d'anticorps monoclonaux murins anti-hGH pour former un complexe anticorps-sandwich. Le conjugué enzymatique non lié est ensuite éliminé par un lavage avec centrifugation axiale. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté à la bille et le signal généré est proportionnel à l'enzyme liée.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Le patient doit être à jeun et au repos complet pendant 30 minutes avant le prélèvement sanguin.^{6,7}

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

Ictériques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret Hormone de croissance IMMULITE/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire : 50 µl sérum.
L'unité-échantillon doit contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.

Conservation : Réfrigérer immédiatement. Stable à +2°/ +8°C pendant 8 heures,^{6,7} ou 2 mois (aliquoté) à -20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2/ +8 °C. Éliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-

VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter toute contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice).

Eau : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Tests unitaires GH (LGH1)

Avec code-barres. Chaque unité-test contient une bille revêtue d'anticorps monoclonal anti-hGH murin. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.
LKGH1: 100 unités. **LKGH5**: 500 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant leur ouverture pour éviter tout risque de condensation. Lors de la première utilisation, ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets après ouverture pour les protéger de l'humidité.

Cartouche à réactif GH (LGH2)

Avec code-barres. Flacon de 7,5 ml contenant un anticorps polyclonal ovin anti-hGH conjugué à la phosphatase alcaline d'intestins de veau, dans un tampon avec conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.
LKGH1: 1 cartouche.
LKGH5: 5 cartouches.

Ajusteurs GH (LGHL, LGHH)

2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») contenant de l'hGH lyophilisée dans du sérum non-humain, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en

imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à +2°/ +8 °C pendant 30 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

LKGH1: 1 jeu. **LKGH5:** 2 jeux.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon GH (LGHZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons cliniques. Un flacon de 25 ml de sérum non-humain prétraité, avec conservateur. Stable à +2/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

LSUBX : substrat chimiluminescent

LPWS2 : solution de lavage de la sonde

LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LCHx-y : Supports pour unités échantillons (avec code-barre)

LSCP : unités échantillons (à usage unique)

LSCC : Bouchons pour unités échantillons (optionnel)

CON6 : Contrôle multiparamétrique à trois niveaux

Egalement requis

Pipettes pour transfert d'échantillon ; eau distillée ou désionisée ; contrôles.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité :

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) d'hGH.

Valeurs de référence

Une étude réalisée dans un grand laboratoire de référence de l'ouest des Etats Unis sur 59 hommes et 60 femmes adultes en bonne santé apparente a donné les intervalles de référence ci-après:

Hommes: jusqu'à 1 ng/ml

Femmes: jusqu'à 10 ng/ml

La sécrétion d'hormone de croissance par l'hypophyse est pulsatile, et des taux transitoires allant jusqu'à 40 ng/ml ont été observés chez des individus sains. Comme les taux sont bas entre les pics sécrétoires chez les individus sains, les dosages in vitro doivent avoir une sensibilité suffisante pour permettre de distinguer les patients avec des taux anormalement bas des sujets en bonne santé dont les valeurs peuvent chuter dans la zone subnormale. C'est pourquoi un taux de base d'hCG ou un dosage réalisé aléatoirement ne fournit que peu d'information diagnostique. Chez certains patients, la sécrétion spontanée d'hormone de croissance est mieux suivie à l'aide d'un système de prélèvement en continu ou en prélevant des échantillons pour le dosage de l'hGH toutes les 20 à 30 minutes, sur une période de 12 à 24 h. Certaines épreuves de provocation destinées à stimuler ou à supprimer la libération d'hormone sont également employées pour évaluer la sécrétion d'hormone de croissance ; la définition de ce qui constitue une réponse anormale variant selon les laboratoires.¹

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Les patients sous traitement par hormone de croissance peuvent développer des anticorps qui interféreront dans le dosage entraînant des résultats faussement abaissés.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons

provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des rares sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans gel, ni activateur de la coagulation).

Merci de bien vouloir noter qu'à partir des **versions 4.13 du logiciel Immulite et 5.7b du logiciel Immulite 1000**, l'unité alternative se réfère au 2^{ème} Standard International de l'OMS NIBSC IS 98/574 de GH recombinante, et avec un facteur de conversion de 2,4 (ng/ml × 2,4 → mIU/l).

Pour les versions antérieures de logiciels, l'unité alternative se réfère au 1^{er} Standard International de l'OMS NIBSC IS 80/505 avec un facteur de conversion de 2,6.

Si vous réeditez des résultats obtenus sur une version antérieure du logiciel, les résultats seront exprimés par rapport au 2^{ème} Standard International de l'OMS NIBSC IS 98/574 de GH recombinante.

Facteur de conversion :

ng/ml × 2,6 → mIU/l WHO 1^{er} IS 80/505
ng/ml × 2,4 → mIU/l WHO 2^{ème} IS 98/574

Domaine de mesure: jusqu'à 40 ng/ml (jusqu'à 104 mIU/l, WHO 1^{er} IS 80/505) (jusqu'à 96 mIU/l, WHO 2^{ème} IS 98/574)

Sensibilité analytique : 0,01 ng/ml (0,026 mIU/l).

Effet-crochet aux doses élevées: aucun jusqu'à 17 000 ng/ml.

Précision intra-essai (au sein d'une même série) : les statistiques ont été réalisées sur les résultats de 20 doublets d'échantillons dosés au cours d'une même série. (Voir le tableau « Intraassay Precision ».)

Précision inter-essais (entre plusieurs séries) : les statistiques ont été réalisées sur des échantillons dosés dans 11 séries différentes. (Voir le tableau « Interassay Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions d'hGH (115, 230 et 476 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps utilisé dans le test Immulite hGH est hautement spécifique de l'hGH, présentant une faible réaction-croisée aux autres hormones présentes naturellement. (Voir le tableau « Specificity ».)

Une seconde forme d'hormone de croissance (approximativement 20 000 daltons) représente 15% du total des hormones de croissance présentes dans l'hypophyse humaine. Cette forme d'hormone a les mêmes capacités d'aide à la croissance, mais ne présente pas l'activité "insuline like" associée à la forme de 22 000 daltons. Les hormones de type 20 kDa ont été testées avec le dosage Immulite hGH pour les réactions croisées et ont présenté une réaction croisée de l'ordre de 63%.

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 100 mg/l. Des concentrations de 200 mg/l interfèrent avec ce dosage, entraînant une légère dépression des valeurs. (Voir le tableau " Bilirubin ".)

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Autres types d'échantillons: pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 15 volontaires ont été

prélevés sur tubes secs, héparinés, et sur tubes vacutainer SST® Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' hGH pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE Hormone de croissance.

(Hépariné) = 0,99 (Sérum) – 0,55 ng/ml
r = 0,982

(SST) = 0,92 (tubes ordinaires) + 2,3 ng/ml
r = 0,975

Moyennes :
26,1 ng/ml (Hépariné)
25,8 ng/ml (Sérum)
26,0 ng/ml (SST)

Comparaison de méthodes : le test a été comparé à un dosage immunoradiométrique (coffret A) sur 84 échantillons. (dont les concentrations allaient d'environ 0,04 à 27 ng/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML) = 0,92 (Coffret A) + 0,47 ng/ml
r = 0,937

Moyennes :
6,0 ng/ml (IMMULITE)
6,0 ng/ml (Coffret A)

Assistance technique

En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

hGH

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa dell'ormone della crescita umana (hGH) nel siero, quale ausilio nella gestione dei pazienti.

Codice: **LKGH1** (100 test), **LKGH5** (500 test)

Codice del Test: **GH**
Colore: **Grigio Chiaro**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'ormone della crescita umana (hGH, somatotropina) è un polipeptide che ha origine nell'ipofisi anteriore. E' costituito da una catena di 191 aminoacidi ed una massa molecolare di circa 22 000 dalton. Gli effetti metabolici sono principalmente anabolici. Favorisce la conservazione delle proteine ed utilizza un vasto range di meccanismi per la sintesi delle proteine. Migliora anche il trasporto del glucosio e facilita l'accumulo del glicogeno. Un'altra famiglia di ormoni peptidici, le somatomedine, media le azioni che favoriscono la crescita.¹

La misurazione dell'hGH è interessante principalmente nella diagnosi e nella terapia delle varie forme di secrezione anomala dell'ormone della crescita. I disturbi clinici legati all'iposecrezione includono il nanismo ed il potenziale di accrescimento non raggiunto. L'ipersecrezione viene associata al gigantismo ed all'acromegalia.

Si consiglia di essere prudenti nell'interpretazione dei livelli dell'ormone della crescita. I livelli variano durante il giorno, rendendo difficile la definizione di un range di riferimento o lo stato del paziente sulla base di singole determinazioni. E' stato riscontrato che molti fattori influenzano il tasso di secrezione dell'ormone della crescita, inclusi periodi di sonno e veglia, esercizio fisico, stress, iperglicemia, estrogeni, corticosteroidi, L-dopa, ed altri.¹ A causa della sua somiglianza con la prolattina ed il lattogeno placentare, i primi immunodosaggi sull'ormone della crescita hanno prodotto valori erroneamente elevati in gravidanza ed in donne in allattamento.

Poichè non tutti gli individui acromegalici hanno livelli di base elevati, i test di soppressione basati sul carico di glucosio sono importanti in questo contesto. Nonostante l'iperglicemia indotta, è raro nell'acromegalia che si riscontri una diminuzione dai livelli di base.²

Individui con deficienze nell'ormone della crescita hanno livelli a digiuno/riposo simili ai livelli riscontrati in individui sani. Per questo motivo, sono stati sviluppati vari test per differenziare questi gruppi. Con l'inizio del sonno profondo o dopo 15–20

minuti di esercizio fisico vigoroso, i livelli dell'ormone della crescita presentano un aumento. Altri test per valutare la risposta dell'ormone della crescita sono basati sulla somministrazione di L-dopa, di arginina e di insulina. Propanololo o estrogeni vengono somministrati in combinazione allo stimolo principale per accentuare la risposta.^{4,5}

Sono stati documentati alcuni casi di nanismo in cui sia il livello di base che la risposta al test sono stati normali. Questi casi possono includere insensibilità all'ormone della crescita o alle somatomedine, o la presenza di anticorpi o dell'ormone della crescita immunoreattivo ma biologicamente inattivo.⁴

Principio del procedimento

IMMULITE/IMMULITE 1000 Ormone di crescita è un dosaggio immunometrico in fase solida a doppio sito, in chemiluminescenza.

La fase solida (sferetta) è coattata con anticorpo monoclonale murino anti-hGH. Il reagente contiene fosfatasi alcalina (Intestino di vitello) coniugata con anticorpo policlonale di coniglio anti-hGH. Il reagente e l'hGH sono incubati insieme con una sferetta coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-hGH per formare un complesso. Il coniugato enzimatico non legato è quindi rimosso attraverso un lavaggio a centrifuga. Infine, il substrato chemiluminescente viene aggiunto alla sferetta e viene prodotto un segnale in proporzione all'enzima legato.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti.

Raccolta del Campione

Il paziente deve essere a digiuno e completamente a riposo 30 minuti prima del prelievo.^{6,7}

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

Iterrici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE/IMMULITE 1000 Ormone di crescita non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 50 µL di siero.

(Il Porta Campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto).

Conservazione: Conservare in frigorifero immediatamente. Stabile a 2–8°C per 8 ore,^{6,7} o per 2 mesi (aliquotato) a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Substrato Chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica.)

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti sono un gruppo accoppiato. Le etichette del codice a barra sono necessarie per la prova.

Test Unit GH (LGH1)

Ogni test unit con codice a barra contiene una test unit coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-hGH. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

LKGH1: 100 unit. **LKGH5:** 500 unit.

Le buste delle test unit devono essere a temperatura ambientale prima di aprire. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatto la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere contro umidità.

Porta Reagente GH (LGH2)

Con codice a barre. 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo coniglio policlonale anti-hGH in un tampone, con conservanti.

Conservare chiuso nel frigorifero: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se viene conservato nella maniera indicata.

LKGH1: 1 Porta Reagente.

LKGH5: 5 Porta Reagenti.

Aggiustatori GH (LGHL, LGHH)

Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con hGH liofilo in siero non umano, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con 3,0 mL di acqua distillata o deionizzata.

Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finché il materiale liofilo sia completamente dissolto. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

LKGH1: 1 set. **LKGH5:** 2 set.

Componenti del kit forniti separatamente

Diluente dell'hGH (LGHZ)

Per la diluizione manuale dei campioni dei pazienti. Un flacone contenente 25 mL di siero non umano processato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

LSUBX: Substrato Chemiluminescente

LPWS2: Tampone di lavaggio dell'Ago

LKPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LCHx-y: Tubi porta campioni (con codice a barre)

LSCP: Porta Campioni (monouso)

LSCC: Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

CON6: 3 livelli, controllo multicostituito

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore dell'IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: preparazione, setup, calibrazione, dosaggio e controllo di qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di hGH.

I valori attesi

Uno studio effettuato presso un grosso laboratorio nell'ovest degli Stati Uniti su 59 adulti maschi sani e 60 femmine adulte sane ha prodotto i seguenti intervalli di riferimento:

Maschi: fino a 1 ng/mL

Femmine: fino a 10 ng/mL

La secrezione dell'ormone della crescita da parte dell'ipofisi è episodica e ad intermittenza e sono stati osservati livelli transitori fino a 40 ng/mL in soggetti sani. Poiché i livelli nel siero sono piuttosto bassi tra un rilascio e l'altro in individui sani, sono necessari immunodosaggi con sensibilità sufficiente per distinguere tra pazienti con valori anormalmente bassi e soggetti sani con valori che rientrano nella range basso – normale. Per questo motivo, livelli di base o random di hGH forniscono poche informazioni diagnostiche. In alcuni individui, la secrezione spontanea dell'ormone della

crescita viene controllata mediante l'utilizzo di una pompa di prelievo in continuo, o prelevando i campioni per il dosaggio dell' hGH ogni 20 – 30 minuti in un periodo da 12 a 24 ore. Vengono utilizzati anche alcuni dosaggi atti a stimolare o a sopprimere il rilascio dell'hGH per monitorare la secrezione dell'ormone della crescita.; la definizione delle risposte anomale varia a seconda del laboratorio.¹

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire le proprie gamme di riferimento.

Limiti

Pazienti sottoposti a terapia con hGH potrebbero sviluppare anticorpi anti-hGH che interferiscono con il dosaggio causando risultati falsamente bassi.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in ng/mL. (Se non è notato altrimenti, tutti i risultati sono stati generati nei campioni di siero raccolti in tubi senza barriere di gelatina o additivi che promuovono la coagulazione.)

Attenzione a partire dalle versioni **software 4.13 (IMMULITE) e 5.7b (IMMULITE 1000)**, le unità alternative sono in termini di WHO NIBSC 2° Standard Internazionale 98/574 per l'r-

DNA Ormone della Crescita, con un fattore di conversione di 2,4 (ng/mL × 2,4 → mIU/L).

Per quanto riguarda le versioni precedenti del software, le unità alternative sono in termini di WHO NIBSC 1° Standard Internazionale 80/505, con un fattore di conversione di 2,6.

i risultati ristampati, generati su versioni precedenti del software saranno espressi in termini di WHO NIBSC 2° Standard Internazionale 98/574 per l'r-DNA Ormone della Crescita.

Fattore di Conversione:

ng/mL × 2,6 → mIU/L WHO 1° IS 80/505
ng/mL × 2,4 → mIU/L WHO 2° IS 98/574

Range di calibrazione: Fino a 40 ng/mL (Fino a 104 mIU/L, WHO 1° IS 80/505) (Fino a 96 mIU/L, WHO 2° IS 98/574)

Sensibilità analitica: 0,01 ng/mL (0,026 mIU/L).

Effetto Gancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 17 000 ng/mL.

Precisione intraprove (Entro la stessa esecuzione): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 ripetizioni in un'esecuzione unica (Vedere la tabella "Intraassay Precision").

Precisione interprove (Da un'esecuzione all'altra): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 11 esecuzioni diverse (Vedere la tabella "Interassay Precision").

Linearità: I campioni sono stati provati sotto varie diluzioni (Vedere la tabella "Linearity" per i dati rappresentativi).

Ricupero: Sono stati analizzati i campioni etichettati da 1 a 19 con tre soluzioni di hGH (115, 230 e 476 ng/mL. (Vedere la tabella "Recovery" per i dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo utilizzato nel dosaggio IMMULITE Ormone di crescita è altamente specifico per l'hGH con una bassa crossreattività verso altri ormoni presenti in natura. (Vedi la tabella "Specificity")

Una seconda forma più piccola di ormone della crescita (approssimativamente 20 000 dalton) costituisce il 15% del totale dell'ormone della crescita contenuto nell'ipofisi umana. Questa forma presenta

la normale funzione di promozione della crescita, ma manca dell'attività insulina-simile associata alla forma da 22 000 dalton. E' stata testata la crossreattività nella forma da 20 kDa all'interno del dosaggio IMMULITE Ormone di crescita, la stessa è stata riscontrata essere del 63%.

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 100 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio. Livelli di 200 mg/L interferiscono con il dosaggio, causando un leggero decremento dei valori. (Vedi la tabella "Bilirubin").

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 μ L/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 15 volontari in provette semplici, eparinizzate, e Becton Dickinson vacutainer SST[®]. Ad ugual volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di hGH per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE Ormone di crescita.

(Eparina) = 0,99 (siero) – 0,55 ng/mL
 $r = 0,982$

(SST) = 0,92 (tubi semplici) + 2,3 ng/mL
 $r = 0,975$

Valore medio:
26,1 ng/mL (Eparina)
25,8 ng/mL (siero)
26,0 ng/mL (SST)

Confronto di Metodi: il dosaggio è stato comparato ad un dosaggio immunoradiometrico (Kit A) in 84 campioni dei pazienti. (Range di concentrazione: da 0,04 fino a 27 ng/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML) = 0,92 (Kit A) + 0,47 ng/mL
 $r = 0,937$

Valore medio:
6,0 ng/mL (IMMULITE)
6,0 ng/mL (Kit A)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

Hormona de Crescimento

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* nos analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para o doseamento quantitativo da hormona de crescimento humano (hGH) em soro, como auxiliar no controlo do doente.

Números de catálogo: **LKGH1** (100 testes), **LKGH5** (500 testes)

Código do teste: **GH**. Cor: **Cinzento claro**

Sumário e explicação do teste

A hormona de crescimento humano (hGH, somatotrofina) é um polipeptídeo originado na pituitária anterior. Tem 191 aminoácidos de comprimento e tem um peso molecular de aproximadamente 22 000 daltons. Os seus efeitos metabólicos são principalmente anabólicos. Promovem a conservação da proteína e envolvem uma vasta gama de mecanismos para síntese de proteína. Também aumenta o transporte de glucose e facilita o armazenamento de glicogénio. Uma outra família de hormonas peptídicas, as somatomedinas são responsáveis pela mediação da sua sequência de acções que promovem o crescimento.¹

A medição de hGH é principalmente de interesse no diagnóstico do tratamento de várias formas de secreção inapropriada de hormonas do crescimento. As desordens clínicas de hiposecreção incluem nanismo e crescimento potencial não obtido. A hipersecreção é associada com o gigantismo e a acromegalia.

Deve-se ter cuidado na interpretação clínica de níveis de hormonas do crescimento. Estes variam durante todo o dia, dificultando a definição duma faixa de referência ou a avaliação do estado de um indivíduo baseado numa única determinação. Muitos factores são conhecidos na influência da taxa de secreção da hormona do crescimento, incluindo períodos de sono e estado de alerta, exercício, stress, hipoglicémia, estrogénios, corticosteróides, L-dopa e outros.¹ Devido à sua semelhança com a prolactina e lactogénio placentar,

imunodoseamentos mais antigos da hormona do crescimento apresentavam em geral valores falsamente altos nas mulheres em fase de lactação e grávidas.

Como nem todos os indivíduos acromegálicos possuem níveis basais elevados, os testes de supressão baseados na carga de glucose são valiosos neste contexto. Apesar da hiperglicémia induzida, existe raramente uma redução dos níveis de linha base na acromegalia.²

Indivíduos com deficiência de hormona de crescimento possuem níveis de jejum/repouso semelhantes aos encontrados em indivíduos saudáveis. Vários testes de provocação têm sido concebidos para avaliar a reacção durante o período de sono profundo ou dentro de 15 a 20 minutos após exercício físico enérgico, os níveis de hormona do crescimento apresentam normalmente um aumento.

Outros testes de resposta da hormona de crescimento estão baseados na administração de L-dopa, arginina e insulina. Propanolol ou estrogénio são muitas vezes administrados em conjunto com o estímulo primário para acentuar a resposta.^{4,5}

Um pequeno número de casos de nanismo tem sido documentado nos quais o nível basal e a resposta ao teste de provocação foram normais. Tais casos podem envolver não sensibilidade do tecido ou à hormona de crescimento ou a somatomedinas, ou à presença de anticorpos ou hormonas do crescimento imunoreactivas porém inactivas biologicamente.⁴

Princípio do Procedimento

A Hormona de Crescimento IMMULITE/IMMULITE 1000 é um ensaio imunométrico em fase sólida de dois ciclos, quimioluminescente.

A fase sólida (esfera) é revestida com anticorpo monoclonal murino anti-hGH. O reagente contém fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado a um anticorpo policlonal de coelho anti-hGH. O reagente e a hGH na amostra são incubados juntamente com a esfera revestida com um anticorpo monoclonal murino anti hGH de modo a formar um

complexo sandwich/anticorpo. O conjugado de enzima não ligado é então removido por lavagem centrífuga. Finalmente é adicionado substrato quimioluminescente à esfera gerando um sinal proporcional à enzima ligada.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos.

Colheita

O doente deve estar em jejum e em repouso 30 minutos antes da colheita do sangue.^{6,7}

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

Ictéricas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE / IMMULITE 1000 Hormona de Crescimento não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de amostra: 50 µL soro.

(A cuvete de amostra deve conter um mínimo de 100 µL a mais que o volume total exigido.)

Estabilidade: Refrigerar imediatamente. Estável durante 8 horas a 2–8°C,^{6,7} ou por 2 meses (aliquotado) a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Use água destilada ou deionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Unidades de Teste de GH (LGH1)

Cada unidade rotulada com código de barras contém uma esfera revestida com anticorpo monoclonal de murino anti-hGH. Estável até a data de validade a 2–8°C.

LKGH1: 100 unidades.

LKGH5: 500 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela borda superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

Embalagem de reagentes de GH (LGH2)

Com código de barras. Contém 7,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de bezerro) conjugada com anticorpo policlonal de coelho anti-hGH tamponada, com conservante. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C. Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado

de acordo com as indicações.

LKGH1: 1 embalagem.

LKGH5: 5 embalagens.

Ajustes GH (LGHL, LGHH)

Dois frascos (alto e baixo) de hGH liofilizado em soro de origem não humana, com conservante. Reconstitua cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Estável, após a reconstituição, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

LKGH1: 1 conjunto. **LKGH5:** 2 conjuntos.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluyente de amostra para GH (LGHZ)

Para a diluição manual de amostras de doentes. Um frasco com 25 mL de soro de origem não humana processado, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

LSUBX: Substrato quimioluminescente

LPWS2: Solução de lavagem

LKPM: Dispositivo de limpeza do pipetador

LCHx-y: Contentores de vasos de amostra (com código de barras)

LSCP: Tubos de amostra (descartáveis)

LSCC: Tampas de tubos de amostra (opcional)

CON6: Controlo multiparamétrico de três níveis.

Também necessário

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou deionizada; controlos.

Procedimento do doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para: preparação, setup, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:
utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de hormona de crescimento.

Valores de Referência

Um estudo executado num grande laboratório de referência nos Estados Unidos em 59 homens adultos saudáveis e 60 mulheres adultas forneceu os seguintes resultados:

Homens: Até 1 ng/mL

Mulheres: Até 10 ng/mL

A secreção da hormona de crescimento pela glândula pituitária é episódica e pulsátil, e níveis transitórios de até 40 ng/mL foram observados em indivíduos saudáveis. Já que os níveis no soro são bastante baixos entre os máximos em indivíduos saudáveis, os imunodoseamentos com sensibilidade suficiente são necessários para distinguir doentes com valores anormalmente baixos de pessoas saudáveis que possuem valores que se situam na faixa baixa-normal. Portanto, os níveis basais ou aleatórios de hGH fornecem pouca informação diagnóstica. Em alguns indivíduos, a secreção espontânea da hormona de crescimento é melhor monitorizada usando-se uma bomba de extração contínua, ou extraíndo amostras para um doseamento de hGH a cada 20 a 30 minutos durante um período de 12 a 24 horas. Um número de testes de estimulação projectados para estimular ou suprimir a libertação são também usados para avaliar a secreção da hormona de crescimento; a definição de respostas anormais varia com o laboratório.¹

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Doentes sujeitos à terapia de hGH poderão desenvolver anticorpos à hGH

que interferem com o doseamento e podem causar valores falsamente baixos.

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros dados que possam correlacionar-se.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

Ter em atenção que com início nas **versões de software 4.13 (IMMULITE) e 5.7b (IMMULITE 1000)**, as unidades alternativas usam como referência "WHO NIBSC 2nd International Standard 98/574" para a Hormona de Crescimento r-DNA, com um factor de conversão de 2,4 (ng/mL × 2,4 → mIU/L).

Para versões de software anteriores, as unidades alternativas usam como referência "WHO NIBSC 1st International Standard 80/505", com um factor de conversão de 2,6.

Se forem impressos resultados obtidos em versões anteriores de software, estes serão expressados relativamente à "WHO NIBSC 2nd International Standard 98/574", para a Hormona de Crescimento r-DNA.

Factor de conversão:

ng/mL × 2,6 → mIU/L WHO 1st IS 80/505

ng/mL × 2,4 → mIU/L WHO 2nd IS 98/574

Calibração: Até 40 ng/mL
(Até 104 mIU/L, WHO 1st IS 80/505)
(Até 96 mIU/L, WHO 2nd IS 98/574)

Sensibilidade Analítica: 0,01 ng/mL
(0,026 mIU/L).

Efeito Hook de Alta Dose:
Nenhum até 17 000 ng/mL.

Precisão Intra-ensaio (Entre ensaios):
Foram efectuados cálculos estatísticos para os resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Ver a tabela de "Intraassay Precision")

Precisão Inter-ensaio (Ensaio a ensaio): Foram efectuados cálculos estatísticos para os resultados de 11 ensaios diferentes. (Ver a tabela de "Interassay Precision").

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: Às amostras foram adicionadas, na relação de 1 para 19, três soluções GH (115, 230 e 476 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: o anticorpo usado no procedimento do IMMULITE Hormona de Crescimento é altamente específico para hGH, com poucas reacções cruzadas com outras hormonas que ocorram naturalmente. (Ver tabela de "Specificity".)

Uma segunda, pequena forma de hormona de crescimento (aproximadamente 20 000 daltons) representa 15% do total de hormona do crescimento originado pela pituitária humana. Esta forma tem a mesma actividade normal de promoção do crescimento, mas não apresenta a actividade insulin-like associada com a forma de 22 000 dalton. A forma de 20 kDa foi testada, para avaliar a reacção cruzada, com o IMMULITE Hormona de Crescimento e encontrou-se uma percentagem de 63% de reacção cruzada.

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 100 mg/L não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio. Níveis de 200 mg/L interferem com o ensaio, causando uma ligeira descida dos valores. (Ver a tabela "Bilirubin".)

Hemolise: A Presença de eritrócitos em concentrações até 30 µL/mL não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternativas, foi colhido sangue de 15 voluntários em tubos secos, heparinizados e tubos de vacum SST[®] da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de hGH para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE Hormona de Crescimento.

(Heparin) = 0,99 (Soro) – 0,55 ng/mL
r = 0,982

(SST) = 0,92 (tubos simples) + 2,3 ng/mL
r = 0,975

Means:

26,1 ng/mL (Heparin)

25,8 ng/mL (Soro)

26,0 ng/mL (SST Tubes)

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado com um doseamento imunoradiométrico (Kit A) em 84 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,04 a 27 ng/ml. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML) = 0,92 (Kit A) + 0,47 ng/mL
r = 0,937

Médias:

6,0 ng/mL (IMMULITE)

6,0 ng/mL (Kit A)

Assistência Técnica:

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2005-05-09

PILKGH – 12



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00