

INTENCIÓN DE USO

Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Micropocillos revestidos con hGh MAb	12x8x1
2. La hGH estándar: 6 viales (listo para su uso)	0.5ml
3. La hGH conjugado enzimático: 1 botella (listo para su uso)	12 ml
4. Sustrato TMB : 1 botella (listo para su uso)	12ml
5. Solución de Paro: 1 botella (listo para su uso)	12ml
6. Solución de Lavado Concentrado 20X: 1 frasco	25ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450nm.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadriculado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en una bolsa seca con desecantes.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.
2. Para uso en laboratorio.
3. Los materiales de potencial riesgo biológico:
El calibrador y los controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como de anticuerpos del VIH con reactivos con licencia FDA. Sin embargo, no existe un método de prueba que puede garantizar la completa seguridad de que el virus del VIH, la hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deben ser manipulados en el nivel 2 de bioseguridad, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud de Estados.
4. No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas en las que las muestras o los reactivos del kit se manipulen.
5. Los componentes de este kit están destinados para su uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben ser mezclados.
6. Se recomienda que las muestras de normalización, control y suero se realizaron por duplicado.

7. Los resultados óptimos se obtienen mediante la estricta adhesión a este protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de los requisitos de tiempo y temperatura exactos prescritos son esenciales. Cualquier desviación de esto puede producir datos no válidos.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8°C) por cinco días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20°C hasta un mes.
3. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamientos de la muestra.
4. Previo al ensayo, la muestra deberá ser debidamente descongelada y mezclada.
5. Evite utilizar muestras con exceso de lípidos.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Todos los reactivos deberán ser traídos a la temperatura ambiente (18°-25°C) antes de su uso.
2. Preparar solución de lavado a 1x adicionando 475ml de agua destilada o desionizada al frasco de (25ml a 20x)

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Coloque el número deseado de tiras recubiertas en el mezclador
2. Pipetear 50 µl de estándares de hGH, especímenes y controles en los pozos apropiados.
3. Añadir 100 µl del conjugado enzimático de hGH a todos los pocillos.
4. Cubrir la placa e incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25°C).
5. Retire el líquido de los pozos. Se lavan los pocillos tres veces con 300 µl de tampón de lavado 1X. Posteriormente, sacudir los pocillos sobre papel absorbente.
6. Añadir 100 µl de sustrato TMB a todos los pocillos.
7. Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Añadir 50 µl de solución de paro a todos los pocillos. Agitar la placa suavemente para mezclar la solución.
9. Leer la absorbancia en el lector de ELISA a 450 nm dentro de los 15 minutos después de añadir la solución de paro.

CÁLCULO DE RESULTADOS

La curva estándar se construye como sigue :

1. Compruebe el valor estándar de la hGH en cada vial estándar. Este valor puede variar de un lote a otro. Asegúrese de verificar el valor de cada kit. Véase el ejemplo de la norma adjunta.
2. Para construir la curva estándar, trazar la absorbancia para los estándares de hGH (eje vertical) frente a las concentraciones estándar de hGH (eje horizontal) en un papel cuadriculado. Dibuje la mejor curva a través de los puntos.
3. Leer la absorbancia de los controles y de cada muestra desconocida a partir de la curva. Registrar el valor de cada control o muestra desconocida.
4. Valor por encima del punto más alto de la norma son examinados de nuevo, después de diluir con el estándar de "0"

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Estándar	OD (450 nm)
Estándar 1 (0 ng / ml)	0.025
Estándar 2 (2,5 ng / ml)	0.199
Estándar 3 (5 ng / ml)	0.359
Estándar 4 (10 ng / ml)	0.709
Estándar 5 (20 ng / ml)	1.287
Estándar 6 (40 ng / ml)	2.430

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. No utilice azida de sodio como conservante. La azida de sodio inhibe la actividad de las enzimas HRP.

REFERENCIAS

1. López-Guajardo CC; Armstrong LS; Jordan L; Staten NR; Krivi GG; Martínez AO; Haro LS. Generation, characterization and utilization of anti-human growth hormone 1-43, (hGH1-43), monoclonal antibodies in an ELISA. J Immunol Methods 1998; 215(1-2): 179-85.
2. Potter MA; Hymus S; Stockley T; Chang PL. Suppression of immunological response against a transgene product delivered from microencapsulated cells. Hum Gene Ther 1988; 9(9): 1275-82.
3. Strasburger CJ; Wu Z; Pflaum CD; Dressendorfer RA. Immunofunctional assay of human growth hormone (HGH) in serum: a possible consensus for quantitative HGH measurement. J Clin Endocrinol Metab 1996; 81(7): 2613-20.
4. Tsushima T; Katoh Y; Miyachi Y; Chihara K; Teramoto A; Irie M; Hashimoto Y. Serum concentration of 20K human growth hormone (20K hGH) measured by a specific enzyme-linked immunosorbent assay. Study Group of 20K HGH J Clin Endocrinol Metab, 1999; 84(1): 317-22.