

**Reactivo para la determinación de Gonadotropina
Coriónica Humana**

Solo para diagnóstico In vitro
Para uso exclusivo de laboratorios clínicos o de gabinete
Conservar entre 2°C a 8°C

USO DESTINADO

Inmunoensayo de la enzima para la determinación cuantitativa de Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) en suero humano.

INTRODUCCIÓN

La Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) es una hormona glicoproteica normalmente producida por la placenta durante el embarazo. La molécula de hCG consiste de dos sub-unidades no similares llamadas alfa y beta. La sub-unidad beta con un peso molecular de aproximadamente 30,000 daltons, confiere una especificidad biológica e inmunológica a toda la molécula de hCG debido a su contenido y secuencia aminoácida única. La sub-unidad alfa, con un peso molecular de aproximadamente 18,000 daltons, es prácticamente idéntica a la sub-unidad alfa de las hormonas glicoproteicas pituitarias: hormona luteinizante (LH), hormona estimulante del folículo (FSH), y hormona estimulante de la tiroides (TSH).

La aparición de hCG en la orina o suero justo después de la concepción y su rápida elevación en la concentración lo hace un indicador ideal para la detección y confirmación del embarazo. Sin embargo, los niveles elevados de hCG están también frecuentemente asociados con neoplasmas trofoblásticos y no trofoblásticos; estas condiciones deben ser consideradas antes de poder realizar un diagnóstico de embarazo.

Los inmunoensayos que utilizan anticuerpos específicos para la sub-unidad beta de hCG proporcionan una técnica sensible y específica permitiendo una detección temprana del embarazo alrededor del tiempo del primer periodo menstrual perdido.

En mujeres con embarazo múltiple (gemelos, trillizos, etc), los niveles de hCG han sido reportados ser más altos que aquellos esperados durante un embarazo único normal. Esto es probablemente el resultado de la masa placental incrementada necesaria para aguantar fetos múltiples. Además, como uno podría sospechar, los casos de insuficiencia placental muestran niveles de hCG más bajos que aquellos esperados durante el embarazo normal. Los valores disminuidos también han sido asociados con amenazas de aborto y embarazos ectópicos.

hCG es una prueba rápida, sensible y confiable. Los anticuerpos desarrollados para la prueba determinaran una concentración mínima de 2 mIU/mL.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba cuantitativa hCG está basada en el ensayo inmunoabsorbente enlazado a las enzimas de fase sólida (ELISA). El sistema de ensayo utiliza un anticuerpo anti- α -hCG monoclonal de ratón para la inmovilización de la fase sólida (pozos de microtira) y otro anticuerpo anti- β -hCG monoclonal de ratón en la solución de conjugado (peroxidasa de rábano picante) de enzima - anticuerpo. La muestra de la prueba (suero) es agregada a los pozos de microtira revestidos de anticuerpo α -hCG e

incubados con un Búfer cero a temperatura ambiente por 30 minutos. Si hCG está presente en el espécimen, este se combinará con el anticuerpo en el pozo. Después el pozo es lavado para remover cualquier muestra de prueba residual para enseguida agregar anticuerpo β -hCG etiquetado con peroxidasa de rábano picante (conjugado). El conjugado se unirá inmunológicamente al hCG sobre el pozo, causando que las moléculas hCG se encuentren entre la fase sólida y los anticuerpos enlazados a la enzima.

Después de la incubación a temperatura ambiente por 15 minutos, los pozos son lavados con agua para remover anticuerpos etiquetados no unidos. Una solución de Reactivo TMB es añadida e incubada a temperatura ambiente por 20 minutos, resultando en el desarrollo de color azul. El color desarrollado es frenado al agregar la Solución de paro, y el color cambia a amarillo y es medido espectrofotométricamente a 450 nm. La concentración de hCG es directamente proporcional a la intensidad de color de la muestra de la prueba.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba

1. Placa de micropozos cubiertos de anti- α -hCG monoclonal de ratón con 96 pozos
2. Reactivo de enzima conjugada
3. Búfer cero
4. Juego de estándares de referencias a diferentes concentraciones: 0, 5, 20, 50, 150 y 300 mIU/mL
5. Reactivo TMB
6. Solución de paro (1N HCl)
7. Búfer de lavado concentrado (50x)

Materiales requeridos pero no abastecidos

1. Pipetas de precisión 40 - 200 μ L, 1.0 mL
2. Puntas para pipetas desechables.
3. Agua destilada o desionizada
4. Mezclador Vórtex o equivalente.
5. Papel absorbente o toalla de papel
6. Papel cuadriculado
7. Un lector de MicroElisa.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPÉCIMEN

El suero debe ser preparado de un espécimen de sangre entera obtenida por medio de técnicas médicas aceptables. Este equipo de prueba es para uso solamente con muestras de suero sin aditivos.

ALMACENAMIENTO DE LA PRUEBA E INSTRUMENTACIÓN

Los equipos de prueba sin abrir deben ser almacenados de 2 a 8°C al ser recibidos y la placa de microtira debe ser guardada en una bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición al aire húmedo. Los equipos de prueba abiertos permanecerán estables hasta su fecha de caducidad, siempre y cuando sean almacenados como se describió anteriormente. Un lector de placa de microtira con una amplitud de banda de 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 D.O. o mayor a una longitud de onda de 450 nm es aceptable para su uso en la medición de absorbancia.



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Todos los reactivos deben ser traídos a la temperatura ambiente (de 18 a 25 °C) antes de su uso.
2. Diluir un volumen de búfer de lavado concentrado (50x) en 49 volúmenes de agua destilada. Por ejemplo, diluir 15 mL de búfer de lavado concentrado (50x) en 735 mL de agua destilada para preparar un volumen final de 750 mL de búfer de lavado (1x). Mezcle bien antes de su uso.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos revestidos en el soporte.
2. Vierta 50 µL de estándares, muestras y controles en los pozos apropiados.
3. Vierta 100 µL de Búfer cero en cada pozo.
4. Mezcle perfectamente por 10 segundos. Es muy importante mezclar completamente en este paso.
5. Incube a temperatura ambiente (de 18 a 25 °C) por 20 minutos.
6. Retire la mezcla de incubación con pequeños golpes, vierta los contenidos de la placa en un recipiente para desecho.
7. Enjuague y de pequeños golpes a los micropozos 5 veces con búfer de lavado (1x).
8. Golpeé la microplaca sobre el papel absorbente para remover todas las gotas de agua residuales.
9. Vierta 150 µL de Reactivo de enzima conjugada en cada pozo. Mezcle cuidadosamente por 5 segundos.
10. Incube a temperatura ambiente por 20 minutos.
11. Retire la mezcla de incubación con pequeños golpes, vierta los contenidos de la placa en el fregadero.
12. Enjuague y de pequeños golpes a los pozos de microtira 5 veces con búfer de lavado (1x).
13. Golpeé los pozos sobre el papel absorbente para remover todas las gotas de agua residuales.
14. Vierta 100 µL de Reactivo TMB en cada pozo. Mezcle cuidadosamente por 5 segundos.
15. Incube a temperatura ambiente en la oscuridad por 20 minutos.
16. Frene la reacción al agregar 100 µL de Solución de paro en cada pozo.
17. Mezcle cuidadosamente por 5 - 30 segundos. *Es muy importante asegurarse que vire completamente el color azul a color amarillo en cada pocillo.*
18. Lea la densidad óptica a 450 nm con un lector de placa de microplaca en un plazo no mayor a 15 minutos.

Nota importante: El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente puede afectar la precisión y elevar falsamente la absorbancia.

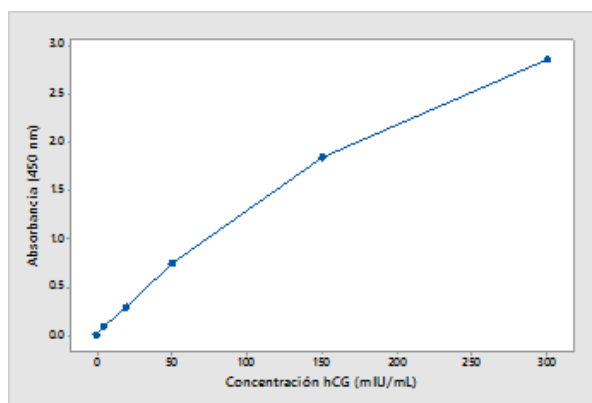
CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule los valores de absorbancia media (DO 450) para cada juego de estándares de referencia, control, y muestras del paciente. Elabore una curva estándar al trazar la absorbancia media obtenida para cada estándar de referencia comparada con su concentración en mIU/ml sobre el papel cuadrícula, con los valores de absorbancia sobre el eje vertical (Y) y las concentraciones sobre el eje horizontal (X). Utilice el valor de absorbancia media para cada muestra para determinar la concentración correspondiente de hCG en mIU/mL desde la curva estándar.

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Los resultados de una corrida estándar típica con lecturas de densidad óptica a 450 nm mostradas en el eje (Y) contra las concentraciones de hCG mostradas en el eje (X). Esta curva estándar es con el propósito de ilustrar solamente, y no debe ser utilizada para hacer cálculos desconocidos. Cada usuario debe obtener sus propios datos y curva estándar en cada experimento.

| Valores de hCG (mIU/mL) | Absorbancia (450 nm) |
|-------------------------|----------------------|
| 0 | 0.003 |
| 5 | 0.087 |
| 20 | 0.295 |
| 50 | 0.743 |
| 150 | 1.836 |
| 300 | 2.858 |



VALORES Y SENSIBILIDAD ESPERADOS

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos normales basados en la población de pacientes. hCG no es normalmente detectado en el suero de hombres sanos o mujeres sanas no embarazadas. La concentración de hCG en el suero de mujeres embarazadas aumenta a 5-50 mIU/mL una semana después de la implantación y continúa incrementando exponencialmente durante las primeras diez semanas, alcanzando un máximo de 100,000 - 200,000 mIU/mL al final del primer trimestre. La concentración mínima detectable de hCG de este ensayo se encuentra estimada en 2.0 mIU/mL.

REFERENCIAS

1. Stenman, U.H., Tanner, P., Ranta, T. Schroder, J. and Sappala, M., *Obstet. Gynecol.*, 59, 375-377 (1982).
2. Kosasa, T.S., *J. Reprod. Med.*, 26, 201 (1981).
3. Kipietro, D.L., *Laboratory Management*, 19, (1981).
4. Uotila, M. Ruoslahti, E. and Engvall, E., *J. Immunol. Methods*, 42, 11-15 (1981).
5. Masseyeff, R. and Maiolini, R., *J. Immunol. Meth.*, 8, 233 (1975).

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS
1155 CHESS DRIVE No. 121
FOSTER CITY, CA 94404 USA