

# PATHOZYME<sup>®</sup> HUMAN CHORIONIC GONADOTROPHIN

## Ref OD347 Inmunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa del hCG en suero humano.

Almacene entre los 2°C y los 8°C. NO CONGELE

Para uso In vitro únicamente

### INTRODUCCIÓN

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una hormona glicoproteína normalmente producida por la placenta durante el embarazo. La molécula del hCG consiste en dos subunidades alfa y beta combinadas y disímiles. La subunidad beta, con un peso molecular de aproximadamente 30.000 daltons, confiere especificidad biológica e inmunológica a toda la molécula hCG por virtud de su única secuencia aminoácida y su contenido. La subunidad alfa, con un peso molecular de aproximadamente 18.000 daltons, es esencialmente idéntica a la subunidad beta de las hormonas glicoproteína de la pituitaria. La hormona luteinizante (LH), la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona estimulante de la tiroides (TSH).

La aparición del hCG en la orina o en el suero al poco tiempo de la concepción y su rápida elevación de su concentración, la hace un indicador ideal para la detección y confirmación del embarazo. Sin embargo, los niveles elevados de hCG son también frecuentes y están asociados con los neoplasmas trofoblásticos y no trofoblásticos. Hay que tener en cuenta estas consideraciones antes de diagnosticar el embarazo. Los inmunoanálisis que utilizan anticuerpos específicos a la subunidad beta del hCG proporcionan una técnica sensible y específica permitiendo la detección temprana del embarazo mas o menos en el momento de la primera pérdida menstrual. En las mujeres con embarazos múltiples (mellizos, trillizos etc.) se han reportado niveles más altos que los esperados durante un embarazo sencillo normal. Esto es quizás el resultado del aumento de la masa de la placenta necesaria para sostener los fetos múltiples. También, y como se puede esperar, los casos de insuficiencias placentaria muestra niveles mas bajos de hCG que los esperados durante un embarazo normal. Los valores disminuidos también se han asociado con la amenaza de aborto y con el embarazo ectópico

La siguiente preparación arrojó negativo al probarse: TSH (Referencia estándar WHO, preparación 80/558) a menos de 250µ IU/ml, FSH (Referencia internacional WHO, preparación - HMG) a menos de 500 mIU/ml. Prolactina (Referencia internacional WHO Preparación 84/500) a menos de 500 ng/ml y HCG (Referencia internacional WHO, preparación 65/217) a menos de 100 ng/ml. Se detectó una reacción cruzada de 1.6% con el LH (Referencia Internacional WHO preparación 68/40) y a nivel de 500 mIU/ml.

### EL PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El PATHOZYME hCG es un inmunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa del hCG en suero humano y es únicamente para uso profesional.

### PRINCIPIO DEL ENSAYO

Se cubren los pozos de microtitulación con anticuerpos específicos monoclonales anti-hCG. Luego se añade el suero de prueba y se incuba con Buffer cero. Si se encuentra presente el hCG en la muestra, se combinará con el anticuerpo en el pozo. Luego se lava el pozo para retirar cualquier espécimen de prueba residual. Se añade enseguida el anticuerpo hCG etiquetado con enzima de peroxidasa de rábano (conjugado). Esto da como resultado el "sandwich" de las moléculas entre la fase sólida y los anticuerpos de enzima ligados. Al añadir el sustrato (TMB) se desarrollará un color pero únicamente en los pozos en los cuales está la enzima indicando la presencia del hCG. La reacción de la enzima se detiene a continuación añadiendo ácido clorhídrico diluido para enseguida medir la absorción a 450nm. La concentración del hCG es directamente proporcional a la intensidad del color en la muestra de prueba. Esta prueba ha sido calibrada al WHO 1st IRP / 3rd IS 75/537.

Ref  
OD347

### CONTENIDO



<b>Microtitre Plate</b>	<b>12 x 8 pozos x 1</b>
Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico dentro de una bolsa de hojilla de aluminio resellable y con desecante.	
<b>Cal A</b> 0 mIU/ml	<b>1 ml</b>
Referencia estándar: Suero humano libre de hCG. Listo para su uso. (Incoloro).	
<b>Cal B</b> 5 mIU/ml	<b>1 ml</b>
Referencia estándar: hCG diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).	
<b>Cal C</b> 20 mIU/ml	<b>1 ml</b>
Referencia estándar: hCG diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).	
<b>Cal D</b> 50 mIU/ml	<b>1 ml</b>
Referencia estándar: hCG diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).	
<b>Cal E</b> 150 mIU/ml	<b>1 ml</b>
Referencia estándar: hCG diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).	
<b>Cal F</b> 300 mIU/ml	<b>1 ml</b>
Referencia estándar: hCG diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).	
<b>Washbuf</b> X20	<b>50 ml</b>
Concentrado de buffer de lavado: Buffer basado en Tris con detergentes. (Incoloro).	
<b>BUF</b> AS	<b>11 ml</b>
Buffer Cero. Buffer basado en fosfato con proteínas estabilizadoras. Listo para su uso ( Verde)	
<b>Conj</b>	<b>16.5 ml</b>
Anti- hCG Anti- hCG conjugado a HRP. Listo para su uso (Rojo)	

<b>Subs</b>	<b>TMB</b>	<b>11ml</b>		
Solución de sustrato: 3,3', 5,5' Tetrametil Bencidina buffer de citrato i. Listo para su uso (Incoloro)				
<b>Solin</b>	<b>Stop</b>	<b>HCl</b>	<b>1 M</b>	<b>11ml</b>
Solución de paro: Ácido clorhídrico diluido en agua purificada. Listo para su uso. (Incoloro)				
Hojilla de instrucciones y hoja de registro de datos EIA				<b>1 + 1</b>

### MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

Micropipetas 100µl 200µl y 1000µl  
Puntas de pipeta desechables  
Papel absorbente  
Lector de micro placa con filtro de 450nm.  
Papel gráfico

### PRECAUCIONES

El PATHOZYME hCG contiene materiales de origen humano los cuales han sido examinados y confirmados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV I y II y para el HBsAg usando procedimientos de examen aprobados por la FDA a nivel de donante sencillo. Ya que ninguna prueba puede ofrecer una seguridad total de que los productos derivados de fuente humana no puedan transmitir agentes infecciosos, se recomienda que los reactivos de este kit sean manejados con cuidado extremo y atención durante su uso y disposición. No los ingiera.

Los reactivos del PATHOZYME hCG no contienen sustancias peligrosas según lo definen las regulaciones químicas británicas (Información de peligro y empaque para el suministro). Sin embargo, todos los reactivos deben tratarse como potencialmente bio peligrosos tanto en su uso como en su disposición. La eliminación final debe estar en concordancia con la legislación local.

La solución de paro del PATHOZYME hCG es ácido clorhídrico diluido, por consiguiente, es altamente corrosivo. Manéjelo con cuidado. En caso de contacto, lave totalmente con agua abundante.

El PATHOZYME hCG contienen un 1% de Proclin 300\* como preservativo el cual puede ser tóxico si se ingiere. En caso de contacto, lave totalmente con agua corriente y busque atención médica.

\*Proclin® 300 es una marca registrada de ROHM & HAAS Limited.

### ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro de un rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C.

La fecha de vencimiento es el último día del mes y se encuentra marcado en la botella y en la etiqueta del kit. El kit se desempeñará según las especificaciones escritas hasta la fecha de vencimiento determinada, la cual es tomada teniendo en cuenta la fecha de fabricación del producto. No use los reactivos pasada la fecha de vencimiento.

Debe evitarse la exposición de los reactivos a temperaturas extremas ni a luz solar directa.

NO CONGELE LOS REACTIVOS ya que esto los hará completamente inservibles.

### RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPECIMEN

Obtenga una muestra de sangre venosa del paciente y permita que se forme un coágulo y que se retraiga. Centrifugue la muestra de sangre coagulada y recolecte el suero claro. Se requieren muestras de suero frescas.

No use suero lipémico ni hemolizado ni contaminado para la prueba ya que estas circunstancias afectaran adversamente los resultados.

El suero puede almacenarse entre los 2°C y los 8°C hasta por 48 horas antes de efectuar la prueba. Si se requiere un almacenamiento más prolongado, almacene a -20° hasta por 1 año. Las muestras derretidas, deben mezclarse completamente antes de efectuar las pruebas.

No use como preservativa la Asida de Sodio ya que este producto podrá inhibir el sistema de enzima de peroxidasa.

No haga ciclos de congelar-descongelar repetitivos pues esto causará resultados falsos.

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos deben llegar a temperatura ambiente (20° a 25°C) deben mezclarse totalmente antes de usarlos. No induzca la formación de espuma.

Buffer de lavado:  
Diluya la concentración de buffer de lavado usando una parte de concentrado de buffer de lavado con 19 partes de agua destilada. Por cada tira rompible de 8 pozos, prepare 25 ml de buffer de lavado diluido añadiendo 1.25ml de buffer de lavado concentrado a 23.75ml de agua destilada. Prepare solución fresca de buffer de lavado antes de cada tiraje de análisis. Se suministra buffer de lavado adicional para permitir el inicio de la máquina automática de lavado.

El procedimiento de lavado es crítico para el resultado del análisis. Un lavado insuficiente dará como resultado poca precisión y lecturas de absorción falsamente elevadas.

## LIMITACIONES DE USO

No se han validado para esta prueba el uso de muestras diferentes a suero. No existe un protocolo de reutilización para este producto. Al efectuar una interpretación de la prueba se recomienda con vehemencia tener en cuenta todos los datos clínicos. No se debe hacer un diagnóstico basado únicamente en los resultados de un solo análisis clínico.

## PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

- Permita que los componentes del kit y el suero de prueba lleguen a temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de efectuar las pruebas.
- Debe correrse solo un juego de estándares para cada grupo de suero de prueba. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el recipiente. Registre la posición de los estándares y el suero de prueba en la hoja de registro de datos suministrada.
- Las tiras no usadas deben introducirse en la bolsa de hojilla de aluminio con desecante y sellarse con la cremallera zip-lock antes de colocarse dentro de la temperatura de 2°C a 8°C.
- Distribuya 50µl de suero de prueba y de control y estándares a los pozos designados y mezcle suavemente por 30 segundos.
- Distribuya 100 µl de Buffer Zero a cada pozo.
- Mezcle totalmente por 10 segundos. Es muy importante tener una mezcla completa en este paso.
- Incuba la placa por 30 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Al terminar el periodo de incubación, elimine el contenido de los pozos sacudiéndolos hacia un contenedor bio peligroso. Enseguida golpee firmemente los pozos contra papel absorbente. Asegure un contenido adecuado de desinfectante presente en el contenedor bio peligroso.
- Lavado a mano: Llene los pozos con un mínimo de 300 µl de agua destilada por pozo. Sacuda el contenido de la placa hacia un contenedor bio peligroso. Luego golpee firmemente los pozos contra papel absorbente.
- Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar todo residuo de agua en gotitas.
- Lavado a máquina: Asegúrese de distribuir 300 µl de agua destilada por cada pozo y que se añada un desinfectante apropiado en la botella de recolección de desperdicio. Lave los pozos vacíos 5 veces. Después del lavado, retire el exceso de líquido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar toda agua residual en gotitas.
- Distribuya 150µl del conjugado HRP Anti-hCG a cada pozo y mezcle por 5 segundos.
- Incuba la placa por 15 minutos a temperatura ambiente (20°C to 25°C).
- Lave la placa según indicamos mas arriba.
- Distribuya 100µl de la solución de sustrato a cada pozo y mezcle suavemente por 5 segundos.
- Incuba en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Detenga la reacción añadiendo 100µl de solución de paro a cada pozo.
- Mezcle suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia a color amarillo.
- Lea la densidad óptica de forma inmediata y no mas tarde de 10 minutos usando un lector de microplaca con un filtro de 450nm.

## SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Para ser usado por operarios con un entrenamiento mínimo de laboratorio.

No use componentes kit dañados ni contaminados.

Use una punta desechable por cada muestra para evitar contaminación cruzada.

Aunque no es indispensable, recomendamos duplicar todos los estándares y especímenes.

Deben correrse al mismo tiempo los especímenes y los estándares para mantener las condiciones de prueba iguales.

Se recomienda no usar mas de 32 pozos en cada análisis si se usa un pipeteo manual ya que el pipeteo de todos los estándares y especímenes debe completarse dentro de 3 minutos. Una placa completa de 96 pozos puede usarse si se usa un pipeteo automático

Tape todos los reactivos inmediatamente después de usarse.

Evite el pipeteo repetido de los agentes almacenados ya que esto puede causar contaminación.

No mezcle los reactivos ni las tiras cubiertas de anticuerpo tomadas de diferentes kits. Al eliminarse, hay que tener mucho cuidado de no tocar la superficie del pozo.

No permita que el reactivo se escurra a los lados del pozo. Antes de empezar el análisis permita que todos los reactivos lleguen a la temperatura ambiente que oscile entre los 20°C y los 25°C. Agite suavemente los reactivos ya sea invirtiéndolos con suavidad o por giro.

El procedimiento de lavado es crítico para el resultado de este análisis. Un lavado insuficiente dará como resultado poca precisión y lecturas de absorción falsamente elevadas.

Una vez que el análisis se iniciado, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

No contamine la solución de sustrato ya que esto inutilizaría todo el kit.

Revise la precisión y exactitud del equipo de laboratorio usado durante el procedimiento para asegurar resultados reproducibles.

Las tiras no usadas deben re introducirse en la bolsa resellable de hojilla de aluminio con desecante y sellarse usando la cremallera zip-lock y almacenarse a 2°C a 8°C.

## EL CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de la absorción media (A450) por cada juego de estándares y especímenes. Construya una curva estándar dibujando en un papel gráfico la absorción media de cada estándar contra su concentración en U/ml. Use los valores de absorción media de cada espécimen para determinar la correspondiente concentración del hCG en ng/ml de la curva estándar. Si los niveles de control o de las muestras conocidas de los usuarios no arrojan los resultados esperados, los resultados de las pruebas deben considerarse no válidos. Si usa el paquete de software, escoja una curva de regresión cuadrática.

## VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

La gráfica producida por los calibradores deberá ser de forma hiperbólica con el OD450 de los calibradores y proporcional a su concentración. El OD del calibrador A deberá ser menor que 0.75 y el OD del calibrador F deberá ser mayor que 1.5 para que los resultados del análisis sean válidos.

Cada laboratorio deberá establecer sus propios rangos basados en la población de los pacientes. El hCG no es normalmente detectado en el suero de hombres saludables o en mujeres no embarazadas. La concentración del hCG en el suero de mujeres embarazadas aumenta hasta 5-50mIU/ml una semana después de la implantación y continúa incrementando exponencialmente durante las primeras 10 semanas alcanzando un máximo de 100,000-200,000 mIU/ml al final del primer trimestre. La sensibilidad mínima del análisis PATHOZYME hCG es de 2.0 mIU/ml. Las concentraciones de 500IU/ml se han observado usando el Pathozyme hCG sin efecto prozono (gancho).

## DATOS EVALUATIVOS

Calibrado contra los más importantes competidores y contra los estándares de la casa. El coeficiente de variación del PATHOZYME hCG es menor o igual al 10%.

En la evaluación entre el kit Omega PATHOZYME hCG y el kit BioRad CoTube Hcg IRMA Kit, se generaron los siguientes datos.

Número de muestras	53
Coefficiente de correlación	0.994
Pendiente	0.992
Intercepción	-0.781
Medio Omega	267.5 mIU/ml
Medio BioRad	264.5 mIU/ml

En la evaluación entre el kit Omega PATHOZYME hCG y el kit Serocon hCG MAIAOne Kit, se generaron los siguientes datos.

Número de muestras	53
Coefficiente de correlación	0.996
Pendiente	0.902
Intercepción	4.970
Medio Omega	267.5 mIU/ml
Medio Serocon	246.2 mIU/ml

Estos kits demostraron tener una buena correlación.

## REFERENCIAS

- Stenman, U. H., Tanner, P., Ranta, T., Schroder, J. and Seppala, M. *Obstet. Gynaecol.* 1982;59:375-377.
- Kosasa, T. S. J. *Reprod. Med.* 1981; 26:201.
- Dipietro, D. L. *Laboratory Management.* 1981;19:1.
- Uotilla, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E. J. *Immunol. Methods.* 1981;42:11-15.
- Messeyeff, R. and Malolini, R. J. *Immunol. Methods.* 1975;8:233

## QUICK REFERENCE TEST PROCEDURE

- Distribuya 50µl de suero de prueba o de estándares y mezcle suavemente por 30 segundos.
- Distribuya 100µl de Buffer Cero y mezcle completamente por 10 segundos
- Incuba por 30 minutos a temperatura ambiente (20°C to 25°C).
- Elimine el contenido de los pozos y lave 5 veces con buffer de lavado.
- Añada 100µl del Conjugado HRP Anti-PSA cada pozo. Mezcle suavemente por 5 segundos.
- Incuba por 15 minutos a temperatura ambiente (20°C to 25°C).
- Elimine el contenido de los pozos y lave 5 veces con buffer de lavado.
- Añada 100µl de solución de sustrato a cada pozo y agite suavemente por 5 segundos.
- Incuba en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C to 25°C).
- Añada 100µl de solución de sustrato. Agite suavemente por 30 segundos.
- Inmediatamente y no más tarde de 10 minutos, lea las densidades ópticas usando un lector de micro placa con un filtro de 450nm.

8084 ISSUE 7 Revised August 2011 **SPANISH**  
© Omega Diagnostics Ltd., 2011

