

INTENCIÓN DE USO

El kit β -HCG ELISA está destinado para la cuantificación de la concentración de la fracción Beta de HCG en suero humano por ensayo inmunoenzimático colorimétrico.

RESUMEN Y APLICACIÓN

La HCG es una hormona glicoproteína con un peso de 40 kD secretada por la placenta. Los niveles séricos de HCG aumentan a una concentración máxima, luego disminuyen y se estabilizan. HCG circula como molécula intacta en el suero de las mujeres que tienen embarazo normal sin complicación. Las subunidades son eliminadas rápidamente y excretadas por el riñón. La hormona HCG, es similar a la LH, FSH y TSH, todas son glicoproteínas que consisten en dos subunidades disimilares no covalentemente unidas, designadas Alfa y Beta, con cadenas laterales de hidratos de carbono unidas.

Las subunidades alfa de estas glicoproteínas son similares. Por lo contrario, las porciones de la subunidad beta determina las especificidades biológicas e inmunológicas. La subunidad beta de HCG y LH exhiben una homología considerable en el contenido de aminoácidos. Los residuos de aminoácidos específicos para la subunidad beta de HCG confieren la especificidad inmunológica.

Con la disponibilidad de ensayos cuantitativos sensibles para la medición de B-HCG en suero, se ha demostrado que los niveles de HCG pueden ser útiles para predecir el aborto espontáneo ayudando en la detección del embarazo ectópico y la gestación múltiple. También se ha detectado niveles elevados de HCG en suero de pacientes con condiciones fisiológicas anormales no asociadas con el embarazo. La prueba de HCG Bio-Preg proporciona un ensayo rápido, sensible y fiable. Los anticuerpos desarrollados para el ensayo determinarán una concentración mínima de 2 mIU/ml.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

La HCG es un método directo de ELISA en fase sólida. El sistema de ensayo utiliza un anticuerpo anti-hCG para la inmovilización en fase sólida y otro anticuerpo monoclonal anti-BhCG de ratón en la solución de enzima conjugada. La muestra se añade a los pocillos revestidos con el anticuerpo HCG y se incuba con el buffer Zero. Si el antígeno está presente en la muestra, se combinará con el anticuerpo del pocillo. El pocillo se lava a continuación para eliminar cualquier espécimen residual, y se añade la enzima conjugada. El conjugado se unirá inmunológicamente a la B-hCG en el pocillo, dando como resultado que las moléculas de antígeno estén intercaladas entre la fase sólida y los anticuerpos unidos a la enzima. Después de la incubación, los pocillos se lavan para eliminar los anticuerpos marcados no unidos. Se añade una solución de TMB y se incuba durante 20 minutos, dando resultado el desarrollo de un color azul. El desarrollo del color se detiene con la adición de HCl2N, y el color se cambia a amarillo y se mide espectrofotométricamente a 450 nm.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Microposos recubiertos con anticuerpos	12x8x1
2. Estándares de hCG : 6 viales (listos para su uso)	1 ml
3. Enzima Conjugada: 1 frasco (listo para su uso)	18 ml
4. Buffer Zero	12 ml
5. Sustrato TMB: 1 frasco (listo para su uso)	12ml
6. Solución de Frenado: 1 botella (listo para su uso)	12ml
7. Solución de Lavado Concentrado 50X	15ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor
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 la bolsa de aluminio.
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

Potencial de los materiales de riesgo biológico: Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de:

1. Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
2. No pipetee con la boca. No fume, coma, o beba en el área donde maneje este equipo.
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
4. Es recomendable que los estándares, controles y muestras de suero se corran por duplicado
5. Para obtener óptimos resultados, debe apegarse estrictamente al protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y requerimientos de temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de éste puede dar 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 descongelamiento de la muestra.
4. Previo al ensayo, la muestra deberá ser debidamente descongelada y mezclada.

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 diluyendo en 735ml de agua destilada o desionizada el frasco de buffer de 15ml a 50x.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°- 26°C). Mezcle suavemente los reactivos antes de su uso.

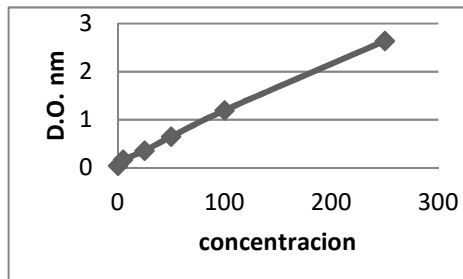
1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los micropocillos no utilizados y refrigérelos a 2-8 °C.
2. Agregue 50 µl de estándares, especímenes y controles en los pozos apropiados.
3. Dispense 100 µl de Buffer Zero en cada pocillo.
4. Mezclar durante 10 segundos e incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos.
5. Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos 5 veces con 300 µl de solución de lavado de 1X. Golpee la placa de los micropocillos sobre el papel absorbente para remover las gotas de agua residuales.
6. Dispense 150 µl de Enzima Conjugada en cada pocillo y mezcle durante 5 segundos.
7. Incube a temperatura ambiente por 30 minutos (18-26°C).
8. Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos 5 veces con 300 µl de solución de lavado de 1X. Golpee la placa de los micropocillos sobre el papel absorbente para remover las gotas de agua residuales.
9. Vierta 100 µl de reactivo TMB.
10. Incube a temperatura ambiente por 20 minutos.
11. Frene la reacción agregando 100 µl de solución de frenado a cada pozo y mezcle entre 5-30 segundos.
12. Lea la densidad óptica a 450nm con un lector de placa de micro valoración en un plazo de 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Calcule los valores de absorbancia media (A450) para cada juego de estándares de referencia, control y muestras del paciente.
2. Elabore una curva estándar al trazar la absorbancia media obtenida para cada estándar de referencia comparada con su concentración en IU/ml sobre el papel cuadrícula, con los valores de absorbancia sobre el eje vertical (Y) y las concentraciones sobre el eje horizontal (X).
3. Utilice el valor de absorbancia media para cada muestra para determinar la concentración correspondiente de HCG en mIU/ml desde la curva estándar.
4. Valores sobre 300 mIU deberán ser retesteados luego de diluir con "0" standard.

Ejemplo de curva Standard

Estandar mIU/mL	OD (450 nm)
0	0.063
5	0.120
20	0.269
50	0.581
150	1.503
300	2.624



VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales sobre la base de una muestra representativa de la población local. Los siguientes valores de HCG pueden usar rangos utilizados solo como guía:

Rango Normal HCG = Menor de 5 mIU/ml

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Los resultados obtenidos mediante la utilización de este kit sirven solo como ayuda en el diagnóstico y deben ser interpretados en relación a la historia clínica del paciente, síntomas y otros procedimientos de diagnóstico.
2. No utilice ácido de sodio como conservador ya que inhibe la actividad de la enzima HRP.

REFERENCIAS

1. Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. Clin Chem 1997; 43 (12):2233-43.
2. Choi MJ; Choe IS; Kang HK; Lee JS; Chung TW. Simple enzyme immunoassay for the simultaneous measurement of whole choriogonadotropin molecules and free beta-subunits in sera of women with abnormal pregnancies or tumors of the reproductive system. Clin Chem 1991; 37(5):673-7.
3. Trundle DS; Chou PP; Raymond A. Automated determination of human choriogonadotropin by use of microparticle capture analysis. Clin Chem 1990;36(3):554-6
4. Mantzavinos T; Phocas I; Chrelia H; Sarandakou A; Zourlas PA. Serum levels of steroid and placental protein hormones in ectopic pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1991; 39(2):117-22

Distribuido por:
Grupo Industrial MexLab S.A. de C.V.
01800-111-4343
www.grupomexlab.com