

# $\beta$ -gonadotropina coriónica humana ( $\beta$ -hCG) (Suero/Orina)

## Uso Previsto:

Ensayo para la detección cuantitativa de gonadotropina coriónica humana  $\beta$  ( $\beta$ -hCG) en suero u orina humanos.

## Resumen:

La gonadotropina coriónica humana (HCG) es una glicoproteína compuesta por 237 aminoácidos con una masa molecular de 25,7 kDa. Es heterodimérico, con una subunidad  $\alpha$  idéntica a la de la hormona luteinizante (LH), la hormona folículo estimulante (FSH), la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y la subunidad  $\beta$  (beta) que es exclusiva de la hCG. La subunidad  $\beta$  de la gonadotropina hCG contiene 145 aminoácidos.

$\beta$ -HCG positivo indica un blastocisto implantado y una embriogénesis de mamífero. La enfermedad trofoblástica gestacional como las molas hidatidiformes (embarazo molar) o el coriocarcinoma pueden producir niveles elevados de  $\beta$ -hCG a pesar de la ausencia de un embrión. También se puede utilizar como marcador tumoral, ya que su subunidad  $\beta$  es secretada por algunos cánceres, incluidos el seminoma, el coriocarcinoma, los tumores de células germinales, la formación de mola hidatidiforme, el teratoma con elementos de coriocarcinoma y el tumor de células de los islotes.

## Principio de Prueba:

Duración total de la prueba: 75 minutos.

La  $\beta$ -HCG utiliza un "principio sándwich", un ensayo de absorción inmunológico ligado a enzimas. Para medir los niveles de  $\beta$ -HCG en suero u orina, el kit incluye pocillos de plástico recubiertos con un anticuerpo monoclonal de  $\beta$ -HCG. Se agrega la muestra del paciente y, durante la incubación, la  $\beta$ -HCG, si está presente, se fija al anticuerpo en fase sólida, cuando se agrega otro monoanticuerpo marcado con HRP, creando un "sándwich" de anticuerpo HRP ( $\beta$ -HCG). Después de agregar el sustrato TMB, el resultado se obtiene mediante un lector de placas EIA.

## Materiales Proporcionados:

- Microplaca recubierta con anticuerpo anti- $\beta$ -HCG 8 x 12 tiras, 96 pocillos
- Calibradores, 6 viales, 0.5 mL cada uno, listos para usar; con concentraciones indicadas en cada envase, Etiquetado con S0 a S5 y la concentración de HCG es 0, 8, 16, 40, 100, 240 UI/L.
- Control: 2 viales de 0,5ml, Listo para usar. La concentración de valor bajo es 19,6 ~ 36,4 UI/L. La concentración de alto valor es 133~247IU/L
- Cromógeno A: 1 vial de 7ml, Listo para usar.
- Cromógeno B: 1 vial de 7ml, Listo para usar.
- Solución de parada: 1 vial de 7 ml, lista para usar
- Solución de lavado: 1 vial de 15 ml, concentrado 20x.
- Inserto: 1 copia.
- Tapa Placa: 1 pieza.

## Materiales Requeridos (Pero no provistos):

- Lector de microplacas con capacidad absorbente de longitudes de ondas de 450 nm y 620 nm.
- Micropipetas y micropipetas multicanal que suministran 50  $\mu$ l con una precisión superior al 1,5%.
- Sacudidor de placas.
- Incubadora.
- Lavador de microplacas.
- Papel absorbente.
- Agua destilada.

## Precauciones y Advertencias:

- Sólo para uso diagnóstico in vitro.
- Tome las precauciones normales requeridas para el manejo de todos los reactivos de laboratorio.
- La eliminación de todos los materiales de desecho debe realizarse de acuerdo con las pautas locales.
- No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
- Todos los desechos de muestras y reacciones deben considerarse • Cubra e incube potencialmente biopeligrosos. La manipulación de las muestras y los residuos de la reacción debe realizarse de acuerdo con las normativas y directrices locales.
- La solución de parada contiene ácido sulfúrico, que puede causar quemaduras graves. En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
- Los ácidos neutralizados y otros desechos líquidos deben descontaminarse agregando un volumen suficiente de hipoclorito de sodio para obtener una concentración final de al menos 1,0%. Puede ser necesaria la exposición a hipoclorito de sodio al 1,0 % durante 30 minutos para garantizar una descontaminación eficaz.
- Algunos reactivos contienen 0,05 % o 0,1 % de ProClin 300 que puede causar sensibilización por contacto con la piel, por lo que debe evitarse. Los reactivos y sus recipientes deben desecharse de forma segura. En caso de ingestión, acúdase inmediatamente al médico y muéstresele la etiqueta o el envase.
- El sustrato tiene un efecto irritante sobre la piel y las mucosas. En caso de posible contacto, lavar los ojos con abundante agua y la piel con jabón y abundante agua. Lave los objetos contaminados antes de reutilizarlos. Si es inhalado, lleve a la persona al aire libre.
- Para obtener información sobre las sustancias peligrosas incluidas en el kit, consulte la Hoja de datos de seguridad de materiales (MSDS), que está disponible a pedido.
- No pipetear con la boca. Use ropa protectora, guantes desechables y protección para los ojos y la cara al manipular muestras y reactivos. Lávese las manos después de su uso.
- Si alguno de los reactivos entra en contacto con la piel o los ojos, lavar abundantemente la zona con agua.

## Almacenamiento y Estabilidad:

- Almacenar a 2- $^{\circ}$ C.
- Selle y devuelva los reactivos no utilizados a 2-8 $^{\circ}$ C, en cuyas condiciones se mantendrá la estabilidad durante 2 meses o hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, lo que ocurra primero.

## Recolección y Preparación de Muestras:

Las muestras de suero y orina se pueden analizar mediante el procedimiento de  $\beta$ -HCG. Retire el suero del coágulo lo antes posible para evitar la hemólisis. Las muestras cubiertas se pueden almacenar hasta 48 horas a 2~8  $^{\circ}$ C. Las muestras mantenidas durante más tiempo se pueden congelar a -20  $^{\circ}$ C y evitar la congelación repetida.

Las muestras de suero con concentraciones esperadas superiores a 240 UI/L deben diluirse con solución salina normal. Las muestras de orina con concentraciones esperadas superiores a 240 UI/L deben diluirse con dilución de muestra de orina.

**Nota:** Si es necesario, elimine mediante centrifugación las partículas o agregados de fibrina suspendidos que puedan producir resultados falsos positivos.

## Control de Calidad:

Cada laboratorio debe tener controles de ensayo a niveles en el rango bajo, normal y elevado para monitorear el rendimiento del

ensayo. Los controles deben tratarse como desconocidos y los valores deben determinarse en cada procedimiento de prueba realizado. El requisito de control recomendado para este ensayo es utilizar un control de veracidad por separado y analizarlos junto con las muestras en la misma serie. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas.

**Solución de Lavado (Dilución 20X):**

Agregue agua desionizada al concentrado de solución de lavado concentrado 20X. Diluya 50 ml de solución de lavado concentrada con 950 ml de agua desionizada hasta un volumen final de 1000 ml. Estable durante 1 semana a temperatura ambiente.

**Procedimiento de Prueba:**

Asegúrese de que las muestras, los calibradores y los controles de los pacientes estén a temperatura ambiente (18-25°C) antes de la medición. Mezcle todos los reactivos invirtiéndolos suavemente antes de usarlos.

- Utilice solo el número de pocillos necesarios e identifique los pocillos de las microplacas para cada calibrador y muestra que vaya a analizar.
- Agregue 50 µL de calibradores o muestras a cada pocillo.
- Agregue 50 µL de conjugado enzimático a cada pocillo. Agite la microplaca suavemente durante 30 segundos para mezclar.
- Cubra la placa con una tapa para placas e incube a 37°C durante 60 minutos.
- Agregue 350 µL de solución de lavado, decante (golpee y seque) o aspire. Repita 2 veces adicionales para un total de 3 lavados. Un lavador automático de tiras de microplacas puede ser usado. Al final del lavado, invierta la placa y saque la solución de lavado residual sobre papel absorbente.
- Dispensar 50 µL de cromógeno A en cada pocillo.
- Dispensar 50 µL de cromógeno B en cada pocillo.
- Cubra la placa con una tapa para placas e incube a 37°C durante 15 minutos.
- Agregue 50 µL de solución de parada a cada pocillo.
- Agite durante 15 a 20 segundos para mezclar el líquido dentro de los pocillos. Es importante asegurarse de que el color azul cambie a amarillo por completo.
- Lea la absorbancia de cada pocillo a 450 nm (usando de 620 a 630 nm como longitud de onda de referencia para minimizar las imperfecciones de los pocillos) en un lector de microplacas. Los resultados deben leerse dentro de los 10 minutos posteriores a la adición de la solución de parada.

**Cálculo:**

Computadora: use la función de ajuste lineal, el logaritmo de cada concentración de calibrador (Log), como X, tome el logaritmo del valor de absorbancia correspondiente (Log (OD)) como Y, elija el ajuste Log-Log de logaritmo doble (o logarítmico completo) la concentración del suero a analizar se calcula a partir de la línea ajustada.

$$\text{Ecuación: } \log \text{ OD} = B \cdot \log [\text{concentración}] + A$$

**Rango de Medición:**

El valor de corte de la concentración de β-HCG para sujetos sanos es inferior a 8 UI/L

**Sensibilidad:**

El límite de detección del ensayo es de aproximadamente 2,0 UI/L.

**Precisión:**

- Interensayo ≤ 15%
- Intraensayo ≤ 15%

**Especificidad:**

No hay reacción cruzada detectable con TSH, LH, FSH.

**NOTA:**

Los niveles totales de hCG pueden variar en un rango muy amplio dentro de las primeras 4 semanas de gestación; a continuación, se muestra una lista de los niveles séricos de β-hCG y la dilución sugerida. (La FUM es el último período menstrual que data del primer día de su último período). Las molas hidatidiformes (embarazo molar) pueden producir más de 100.000 UI/L de β-HCG. Los sueros u orinas de pacientes con molas hidatidiformes generalmente necesitan una dilución de 1:40, 1:1000. El embarazo ectópico puede producir niveles bajos de β-HCG.

Semanas desde LMP	Dilución	IU/ L
1	Original	0-50
2	Original 1:40	0-400
3	Original 1:40	8-4,000
4	1:40 1:1000	1,000-20,000
8	1:40 1:1000	4,000-130,000
16	1:1000 1:5000	30,000-200,000
17-24	1:40 1:1000	7,000-120,000
25-40	1:40 1:1000	1,000-80,000
desconocido	Original 1:40 1:1000	

