

HCG

Total beta-Human Chorionic Gonadotropin (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de β -gonadotropina coriónica humana total (β -HCG total) en suero

Significación clínica

La gonadotropina coriónica humana (HCG) es una hormona glicoproteínica, producida por la placenta, con una masa molecular de 38.000 daltons. Consta de 2 subunidades (cadenas alfa y beta) asociadas a la hormona intacta. La subunidad alfa (masa molecular de 15.000-20.000 daltons) es común a la FSH, TSH y LH. Sin embargo, la subunidad beta es diferente y le concede especificidad inmunológica y biológica. Las cadenas β (masa molecular de 25.000-30.000 daltons) tienen estructuras muy diferentes y son las responsables de las respectivas funciones hormonales específicas.

La HCG se produce en la placenta durante el embarazo. En mujeres no embarazadas, también se puede producir por tumores del trofoblasto, tumores de las células germinativas con componentes trofoblásticos y algunos tumores no trofoblásticos. La gonadotropina coriónica humana consta de un número de isohormonas con distinto tamaño molecular. La acción biológica de la HCG ayuda a mantener el cuerpo lúteo durante el embarazo. También influye en la producción de esteroides. El suero de mujeres embarazadas contiene principalmente HCG intacta. La molécula de HCG aparece entre 2 y 8 días después de la fecundación en el medio de cultivo del embrión. La HCG se puede detectar en el suero materno 7 días después de la fecundación y 8 días después de la ovulación. El nivel de HCG se triplica entre el día de la detección y el siguiente día. A partir de entonces, disminuye y alcanza un nivel 1,6 veces superior entre los días 6 y 7. La concentración de HCG aumenta exponencialmente en el primer trimestre. Se dobla cada 31-48 h y alcanza mayores cantidades entre las semanas 11 y 13. En el segundo trimestre, a las 20 semanas de gestación, disminuye al 80% y permanece con esta concentración hasta el final del embarazo. La HCG tiene más cargas negativas en las primeras etapas de gestación que en las últimas. Este cambio de carga se produce alrededor de la semana 13, cuando aumenta la producción placentaria de estradiol y progesterona. Unos niveles anormalmente bajos o que descienden rápidamente pueden indicar un estado anormal, como un embarazo ectópico o un aborto espontáneo inminente.

Fundamentos del método

Total beta-Human Chorionic Gonadotropin (CLIA) es un ensayo sandwich para la determinación cuantitativa de β -HCG total en suero.

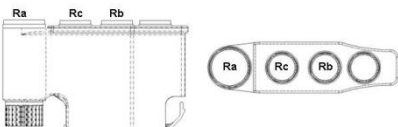
En el primer paso, la muestra y las micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti- β -HCG se añaden a una cubeta de reacción. Luego de la incubación, la β -HCG de la muestra se une a las micropartículas recubiertas de anticuerpo anti- β -HCG. Las micropartículas se capturan magnéticamente y las sustancias sin unir se eliminan por lavado.

En el segundo paso, se añade a la cubeta de reacción el conjugado anti- β -HCG-fosfatasa alcalina. Luego de la incubación, el complejo sandwich formado ante la presencia de β -HCG es capturado magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante sucesivos lavados. En el tercer paso, se añade la solución de sustrato (Substrate Solution) a la cubeta de reacción. La reacción quimioluminiscente producida por el conjugado se mide como unidades relativas de luz (RLU). La cantidad de β -HCG presente en la muestra es directamente proporcional a las RLU generadas durante la reacción. La concentración de β -HCG se determina mediante una curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas cubiertas con anticuerpo monoclonal anti- β -HCG en buffer TRIS.
Rb	Conjugado de anticuerpo monoclonal anti- β -HCG y fosfatasa en buffer PBS.
Rc	Buffer TRIS.

La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:



Reactivos no provistos

- Total beta-HCG Calibrators
- Reproductive Multi Control (L)
- Reproductive Multi Control (H)
- Wash Buffer
- Substrate Solution

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No utilizar reactivos de otro origen.

- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series.

Muestra

Suero

- Recolección:** obtener la muestra de la manera habitual.
- Aditivos:** no se requieren.
- Centrifugar las muestras y separar el suero antes de las dos horas.
- Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** las muestras deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan dentro de las 8 horas posteriores a la recolección, deben conservarse bien tapadas y refrigeradas a 2-8°C. Si el ensayo se posterga por más de 72 horas, las muestras deben ser congeladas a -20°C o menos. Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco. El ensayo requiere 10 μ L de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Total beta-Human Chorionic Gonadotropin (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo con el 5º estándar internacional de la OMS de gonadotropina coriónica (código NIBSC: 07/364).

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de

reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de β -HCG. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

Control de calidad

Reproductive Multi Control (L) y **Reproductive Multi Control (H)** de Wiener lab.

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran en mUI/mL.

Factor de conversión: mUI/mL x 1 = UI/L

Valores esperados

Un estudio realizado a una población de 451 individuos sanos (137 hombres y 314 mujeres no embarazadas) ha determinado el siguiente intervalo de referencia.

Grupo de referencia	N	Intervalo central del 95%
Hombres	137	<0,5-2,2 mUI/mL
Mujeres no embarazadas	314	<0,5-3,0 mUI/mL

A continuación se resumen los intervalos de β -HCG representativos durante un embarazo normal.

Etapas de gestación aproximada (semanas)	N	Intervalo central del 95%
1-10	129	50-221.796 mUI/mL
11-15	121	15.205-227.034 mUI/mL
16-24	122	5.002-75.445 mUI/mL
25-40	121	1.501-69.208 mUI/mL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitaciones del procedimiento

El kit NO está diseñado para la evaluación de riesgo de la trisomía 21.

El límite superior del ensayo es de 5000 mUI/mL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de β -HCG inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >5000 mUI/mL.

La concentración de β -HCG en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Performance

a) Sensibilidad analítica: $\leq 0,5$ mUI/mL.

b) Rango de medición: 0,5 - 5000 mUI/mL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 10 mg/dL, triglicéridos hasta 1400 mg/dL, proteínas totales hasta 10,0 g/dL, factor reumatoide hasta 800 UI/mL ni anticuerpo antinuclear hasta 2000 UI/L.

- El calibrador C0 de **Total beta-HCG**

Calibrators se complementó con las sustancias en los niveles específicos mostrados en la siguiente tabla. No se observó reactividad cruzada evidente, dado que todos los resultados fueron $\leq 3,0$ mUI/mL. Los resultados se indican en la siguiente tabla.

Sustancia	Concen- tración	β -HCG obtenida (mUI/mL)	Criterios de aceptación
FSH	200 mUI/mL	0,14	β -HCG obtenida $\leq 3,0$ mUI/mL
TSH	100 μ UI/mL	0,25	
LH	200 mUI/mL	0,22	

d) Exactitud:

Se utilizó una muestra del 5º estándar internacional de la OMS de gonadotrofina coriónica (código NIBSC: 07/364) con un valor definido y trazable para comprobar la exactitud del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a $\pm 10\%$. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	β -HCG medida (mUI/mL)	β -HCG definida (mUI/mL)	Desvío relativo
HCG de la OMS	24,07	25,80	-6,66%

e) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

Muestra	Valor medio (mIU/m l)	CV intra-e nsayo	CV inter-en sayo	CV total
1	6,72	2,50%	1,38%	2,88%
2	191,01	1,14%	0,73%	1,26%

f) **Linealidad:** la reacción es lineal entre 5,0 y 5000 mUI/mL

g) Correlación:

El kit **Total beta-Human Chorionic Gonadotropin (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 447 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concen- tración (mUI/mL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0,5-1000	1,04	3,57	0,9903

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001168)
- 2 x 100 tests (cód. 1001169)

Referencias

-Berger P, Bidart JM, Delves PS, Dirnhofer S, Hoermann R, Issacs N, Jackson A, Klonisch T, Laphorn A, Lund T et al. Immunochemical mapping of gonadotropins. Mol Cell Endocrinol 1996;125:33-43.

-Bidart JM, Birken S, Borger P, Krichevsky A. Immunochemical mapping of hCG and hCG-related molecules. Scand J Clin Lab Invest 1993;53:118-136.

-Borrelli PTA, Butler SA, Docherty SM, Staite EM, Borrelli AL, Iles RK. Human chorionic gonadotropin isoforms in the diagnosis of ectopic pregnancy. Clin Chem 2003;12:2045-2049.

-Butler SA, Iles RK. The free monomeric beta subunit of human chorionic gonadotropin (hCG beta) and the recently identified homodimeric beta-beta subunit both have autocrine growth effects. Tumour Biol 2004;25:18-23.

-Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. Clin Chem 1997;43:2233-2243.

-Sokolove PJ, Faix JD. Agreement of intact and beta chain-specific HCG assays in abnormal pregnancy. Journal of clinical Immunoassay, Fall, 1991; 14, No. 3: 196-199.

SÍMBOLOS

CE Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva

Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

Elaborado por

MD Uso diagnóstico "in vitro"

Consultar instrucciones de uso

Este lado arriba

Límite de temperatura (conservar a)

LOT Número de lote

Fecha de caducidad

REF Número de catálogo

Riesgo biológico

Cont. Contenido

SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-140
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica