

### INTENCIÓN DE USO

El kit HCG ELISA esta destinado para la cuantificación de la concentración de HCG en suero o plasma humano por ensayo inmunoenzimático colorimétrico.

### RESUMEN Y APLICACIÓN

La HCG es una hormona glicoproteína con un peso de 40 kD secretada por la placenta. HCG tiene dos subunidades, alfa y beta. La subunidad alfa es similar a la subunidad alfa encontrada en LH, FSH y TSH hormonas glicoproteicas. Sin embargo, la subunidad beta es específica y se diferencia de hormona a hormona. Los aumentos séricos de HCG en el embarazo temprano a concentraciones de 50.000 - 150.000 mUI / ml entre las semanas 8 y 12 de gestación y el declive para 20.000 mUI / ml en la semana 18, donde permanecen durante la duración del embarazo. El aumento del nivel de HCG en mujeres no embarazadas o los hombres sugieren neoplasia. Por lo tanto la medición de HCG es útil para el reconocimiento y la vigilancia de los tumores y como marcador tumoral para otros tumores malignos que producen HCG ectópica. Estos incluyen páncreas, testicular, cáncer broncogénico y pulmonar. La sensibilidad de esta prueba de ELISA es de 0,5 mUI / ml.

### PRINCIPIO DEL ENSAYO

La HCG es un método directo de ELISA en fase sólida. Las muestras y el diluyente conjugado anti-HCG-HRP se suman a los pocillos recubiertos con Streptavidina a la subunidad beta. La HCG en el suero del paciente se une al anticuerpo monoclonal anti-HCG. Las proteínas no unidas con el conjugado HRP son lavadas por la solución de lavado. Tras la adición del sustrato, la intensidad del color es proporcional a la concentración de HCG en las muestras. Una curva estándar se prepara sobre la intensidad del color a la concentración de la HCG en la muestra.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Micropozos recubiertos con estreptavidina	12x8x1
2. Estándares de hCG : 6 viales (listos para su uso)	0.5ml
3. Enzima Conjugada hCG: 1 frasco (listo para su uso)	12 ml
4. Sustrato TMB: 1 frasco (listo para su uso)	12ml
5. Solución de Frenado: 1 botella (listo para su uso)	12ml
6. Solución de Lavado Concentrado 20X: 1 frasco	25ml

### 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 cuadrículado.

### 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 adicionando 475ml de agua destilada o desionizada al frasco de (25ml a 20x)

### 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.

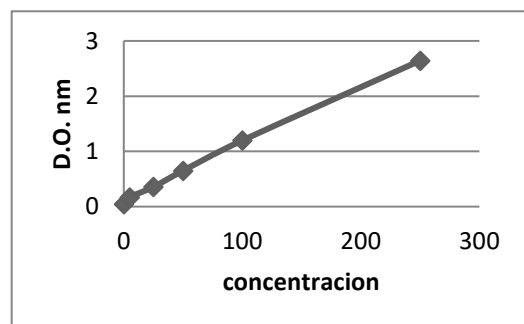
1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los micropocillos no utilizados y refrigérelos a 2-8 °C.
2. Agregue 25 µl de estándares, especímenes y controles en los pozos apropiados.
3. Vierta 100 µl de solución enzima conjugada.
4. Cubra e incube a temperatura ambiente por 60 minutos (18-26°C).
5. Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos tres 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. Vierta 100 µl de reactivo TMB.
7. Incube a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Frene la reacción agregando 50 µl de solución de frenado a cada pozo.
9. 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 250 mIU deberán ser re testeados luego de diluir con "0" standard.

#### Ejemplo de curva Standard

Estandar mIU/mL	OD (450 nm)
0	0.048
5	0.169
25	0.357
50	0.650
100	1.198
250	2.642



### 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 preservante ya que inhibe la actividad de la enzima HRP.

### PERFORMANCE

#### Correlación con un kit ELISA de referencia:

Un total de 125 muestras de suero fueron analizadas utilizando el presente kit ELISA y otro kit de referencia. Fueron obtenidos los siguientes resultados:

Correlación	Pendiente	Intercepción
0.993	0.948	-1.11

### 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; Chrelis 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.