

HCG

Teste imunoenzimático para determinação quantitativa de hormônio da gonadotrofina coriônica humana (HCG) em soro ou plasma.
Somente para uso diagnóstico in vitro.

96 testes código 52001

SIGNIFICADO CLÍNICO

Um anticorpo monoclonal específico para a fração alfa é imobilizado nos poços da microplaca. O HCG da amostras se liga aos anticorpos dos poços. Depois da lavagem, o conjugado enzimático de anticorpos da porção beta da molécula de HCG é adicionado. Depois da segunda lavagem, o substrato é adicionado. A atividade enzimática encontrada nos poços é proporcional à quantidade de HCG na amostra. A absorbância é medida com leitora de ELISA.

O hormônio da gonadotrofina coriônica humana (HCG) é um hormônio glicoproteico, produzido pelas células trofoblásticas do desenvolvimento da placenta no momento de implantação do blastocisto. O HCG aparece no sangue após 10 dias da concepção e sua concentração é indicada para diagnóstico da gravidez.

Além disso, a medição de HCG também é útil para monitorar gravidez anormal, incluindo gravidez ectópica. Nestes casos, os níveis de HCG sobem em uma taxa pequena e são menores que em casos de gravidez normal.

Elevação de HCG pode ocorrer em pacientes com neoplasmas, como coriocarcinoma. Além disso, o HCG pode ser produzido em quantidades significativas por outros tumores tais como carcinomas de ovário e carcinomas de testículos. A determinação de HCG pode ser utilizada também como triagem pré-natal para trissomia do 21 (síndrome de Down), combinada com a determinação de AFP e estriol livre. Em casos de gravidez de síndrome de Down, os níveis de HCG são mais elevados.

PRINCÍPIO DO TESTE

Um anticorpo monoclonal específico para a fração alfa é imobilizado nos poços da microplaca. O HCG da amostras se liga aos anticorpos dos poços. Depois da lavagem, o conjugado enzimático de anticorpos da porção beta da molécula de HCG é adicionado. Depois da segunda lavagem, o substrato é adicionado. A atividade enzimática encontrada nos poços é proporcional à quantidade de HCG na amostra. A absorbância é medida com leitora de ELISA.

REAGENTES

1. Microplaca: 1 microplaca 12X8 poços quebráveis revestidos com anticorpos monoclonais anti-HCG embalada em embalagem de alumínio com dessecante. Trazer a temperatura ambiente antes do uso. Reembale os poços não utilizados na embalagem original e armazene entre 2 a 8 graus C.

2. Diluente de ensaio: 2 frascos com 60 ml. Pronto para uso.

3. Curva padrão: pronto para uso. Padrão A: 3,0ml, padrões B a E: 0,5 ml. Os padrões foram calibrados contra o padrão WHO 3rd IS 75/537. Os valores são:

A: 0 IU/l (reagente amarelo)

B: 4 IU/l (reagente azul)

C: 16 IU/l (reagente verde)

D: 50 IU/l (reagente laranja)

E: 200 IU/l (reagente vermelho)

Contém Trimerosal (0.02%) e sulfato de gentamicina como conservantes.

4. Conjugado enzimático: 300 vezes concentrado. 1 frasco com 0,5 ml. Anticorpo monoclonal anti-HCG conjugado à HRP. Diluir a quantidade necessária com diluente de ensaio antes da realização dos testes

5. Solução de lavagem: 20x concentrada. 1 frasco com 50ml. Contém tampão fosfatado e detergente (Tween 20). Antes de usar, diluir em 1000 ml de água destilada. Algumas vezes, cristais podem estar presentes quando a solução for armazenada entre 2 a 8 graus C. Estes cristais são dissolvidos quando a solução atingir temperatura ambiente ou quando a solução for dissolvida. Armazenar entre 2 a 30 graus C.

6. Substrato TMB: 1 frasco com 15 ml. Contém TMB em tampão citrato. Armazenar entre 2 a 8 graus C. Precaução: armazenar sob proteção da luz. Pronto para uso.



7. Solução de parada: 1 frasco com 15 ml. Contém 0.3 M H₂SO₄. Precaução: manusear com cuidado. Pronto para uso.

8. Seladores de microplaca: 2 seladores de microplaca para serem utilizados durante os procedimentos de incubação. Pronto para uso.

9. Instruções de uso

Nota

Todos os produtos que contêm soro foram testados e demonstraram ser não reativos para HBsAg, HIV 1 e 2 e HCV por testes aprovados pelo FDA. Entretanto, como nenhum teste oferece segurança completa para agentes infecciosos, estes produtos devem ser manuseados como potencialmente infectantes e capazes de transmitir doenças infecciosas. Boas práticas de laboratório para manuseio de produtos derivados de sangue devem ser utilizadas e podem ser encontradas na publicação: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2 Edição, 1988, HHS Publicação No. (CDC) 88-8395.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DO KIT

1. O kit deve ser armazenado entre 2 a 8 graus C e utilizado até a data de validade impressa no rótulo.

2. O kit fechado é válido até a data de validade impressa no rótulo.

COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

Soro ou plasma com heparina ou EDTA podem ser utilizados. Não há interferências de hemólise, lipemia ou altos níveis de bilirrubina. As amostras devem ser armazenadas entre 2 a 8 graus C por breves períodos (até 2 dias). Para períodos de armazenagem superiores, o congelamento a -20 graus C é recomendado. Evitar repetidos ciclos de congelamento-descongelamento.

DILUIÇÃO DAS AMOSTRAS

Amostras com concentrações maiores que o último padrão devem ser diluídas com o padrão zero ou com o diluente de ensaio. Corrigir o resultado utilizando o fator de diluição.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

1. Pipeta de 20µl.

2. Pipeta multicanal de 80 e 100 ul.

3. Aspirador.

4. Leitora de ELISA - 450-620 nm

5. Cronômetro

6. Vortex

PREPARO DOS REAGENTES

Solução de lavagem – Diluir o conteúdo da solução de lavagem concentrada em 1000 ml de água destilada ou deionizada. A solução reconstituída é estável por 1 semana quando armazenada em temperatura ambiente e por 2 a 3 semanas quando armazenada entre 2 a 8 graus C.

Conjugado: diluir 1:300 apenas a quantidade necessária antes do início dos testes. Exemplo:

n. de strips	3	6	12
Conjugado	10 µl	20 µl	40 µl
Tampão	3 ml	6 ml	12 ml

PROCEDIMENTO DO TESTE

- Deixe que todos os reagentes atinjam temperatura ambiente. Prepare os reagentes necessários.
- Marque os poços a serem utilizados.
- Pipetar 80 ul de diluente de ensaio nos poços.
- Pipetar 20 ul de padrão e amostras nos poços adequados.
- Cobrir os poços e incubar em temperatura ambiente por 30 minutos.
- Aspirar ao conteúdo dos poços e lavar 5 vezes com 300 ul de solução de lavagem.
- Pipetar 100 ul de conjugado enzimático em cada poço.
- Cobrir os poços e incubar por 30 minutos em temperatura ambiente.
- Lavar os poços por 5 vezes com 300 ul de solução de lavagem.
- Pipetar 100 ul de substrato TMB em cada poço.
- Cobrir os poços e incubar em temperatura ambiente por 15 minutos.
- Adicione 100 ul de solução de parada. Homogenize o conteúdo dos poços agitando a placa gentilmente.
- Leia a absorbância a 450-620 nm utilizando leitora de ELISA.

NOTAS DA TÉCNICA

- Proteger a placa de luz forte ou luz direta do sol.
- Boa lavagem e aspiração do conteúdo dos poços são essenciais para bom desempenho do teste.
- Pipetar os reagentes sem interrupção.
- Se mais de uma placa for utilizada, realizar uma curva para cada placa.
- A adição de substrato TMB inicia uma reação cinética, que é finalizada pela adição de solução de parada. Deixe que todos os poços testados tenham o mesmo tempo de reação.
- Protegida da luz, a absorbância permanece estável por até 30 minutos após o término das reações.
- Leitora de ELISA realiza a leitura verticalmente. Não toque no fundo dos poços.

PROCEDIMENTO DO TESTE: SUMÁRIO

Reagente	Padrões	Amostras
Diluente de ensaio	80 µl	80 µl
Padrões	20 µl	-
Amostras	-	20 µl
Cobrir a placa e incubar por 30 minutos em temperatura ambiente		
Lavar 5 vezes com 300 ul de solução de lavagem		
Conjugado enzimático diluído	100	100
Cobrir a placa e incubar por 30 minutos a temperatura ambiente		
Lavar 5 vezes com 300 ul de solução de lavagem		
TMB	100	100
Incubar por 15 minutos a temperatura ambiente no escuro		
Solução de parada	100	100
Homogenizar e medir a absorbância a 450-620 nm em até 30 minutos		

RESULTADOS

Cálculo dos resultados:

- Calcule a média das absorbâncias de cada duplicata.
- É recomendado elaborar a curva padrão com o mínimo de 4 padrões e desenhar uma curva. Calcular a concentração de HCG nas amostras.

Poços	Identificação	A450-620 nm	Conc IU/l
1-2	st 0	0.045	
3-4	st 4	0.092	
5-6	st 16	0.271	
7-8	st 50	0.715	
9-10	st 200	2.109	
11-12	Amostra 1	0.138	6.835
13-14	Amostra 2	0.328	20.323
15-16	amostra 3	1.689	145.27

Curva de ensaio apenas demonstrativa. Não utilizar para cálculo dos resultados.

CONTROLE DE QUALIDADE

Cada laboratório deve monitorar o desempenho dos ensaios

VALORES ESPERADOS

Em mulheres não grávidas, os níveis de HCG são menores que 5 IU/l. Em alguns casos, concentrações de até 10 IU/l são encontradas. Amostras de homens e mulheres aparentemente saudáveis foram utilizadas para um estudo e os resultados são demonstrados abaixo:

Mulheres (idade até 50 anos):

hCG < 5 IU/l n=77
hCG 5-10 IU/l n= 1
hCG 13.1 IU/l n= 1

Mulheres pós-menopausa (idade menor que 50 anos):

hCG < 5 IU/l n=61
hCG 5-10 IU/l n=3

Homens (idade inferior a 60 anos) :

hCG < 5 IU/l n=96

Homens (idade superior a 60 anos)

hCG < 5 IU/l n=61
hCG 5-10 IU/l n= 4

Cada laboratório deve determinar seu próprio valor de referência.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Limite de detecção

Com base nos resultados de 16 replicatas do padrão zero, o valor mínimo de HCG detectável é de 0.7 IU/l. O limite de detecção definido é o desvio de 2SD do padrão zero.

2. Precisão

A precisão intra e entre ensaio foi determinada pela análise em 4 diferentes níveis de pool de soro. Os números, valores médios e desvio padrão para cada soro controle são demonstrados na tabela 1.

Tabela 1. precisão intra-ensaio:

Paciente	Número de replicatas	Média IU/l	SD IU/l	CV%
1	16	12.6	0.73	5.8
2	16	29.6	1.31	4.4
3	16	83.4	3.88	4.7
4	16	136	5.05	3.7

Tabela 2. Precisão enter-ensaio:

Paciente	Número de replicatas	Média IU/l	SD IU/l	CV%
1	16	12.1	0.84	6.9
2	16	29.5	1.46	5.0
3	16	86.5	7.07	8.2
4	16	127	6.74	5.3

3. Exatidão: uma concentração conhecida foi adicionada ao soro de 3 pacientes. Os resultados são demonstrados na tabela abaixo:

Tabela 3. Exatidão

Amostr a	HCG endógeno IU/l	HCG adicionado IU/l	HCG esperado IU/l	HCG observado IU/l	Exatidã o%
1	12.7	10	22.7	22.0	97
1	12.7	50	62.7	58.0	93
1	12.7	100	112.7	112.0	99
2	42.0	10	52.0	49.0	94
2	42.0	50	92.0	86.0	93
2	42.0	100	142.0	131.0	92
3	114.0	10	124.0	132.0	106
3	114.0	50	164.0	170.0	104
3	114.0	100	214.0	209.0	98

4. Linearidade (Teste de diluição)

Quatro amostras foram diluídas com o padrão zero da seguinte forma: 1:2, 1:5, 1:10. OS valores de HCG ensaiados e os resultados são demonstrados na tabela 4.

Tabela 4. Diluição de amostras

Amostra	hCG não diluído IU/l	Exatidão%		
		1:2	1:5	1:10
1	13.2	102		
2	45	102	103	104
3	136	101	103	105
4	220	98	98	96

5. Especificidade

A especificidade do teste HCG foi determinada através de altos níveis de LH, FSH e TSH. Os resultados são demonstrados na tabela 5.

Tabela 5. Reações cruzadas

Substância	Concentração	Valor HCG aparente IU/l
hLH calibrado contra WHO 1 st IRP 68/40	25 IU/l	<5.0
	50 IU/l	<5.0
	100 IU/l	<5.0
	200 IU/l	<5.0
hFSH calibrado contra WHO 1 st IS 83/575	50 IU/l	<5.0
	200 IU/l	<5.0
	1000 IU/l	<5.0
	4000 IU/l	<5.0
hTSH calibrado contra WHO 2 nd IRP 80/558	25 IU/l	<5.0
	100 IU/l	<5.0
	200 IU/l	<5.0
	1000 IU/l	<5.0

6. Efeito pró-zona. O ensaio foi testado para determinar o efeito pró-zona. Amostras de HCG em concentrações de até 600000 IU/l foram utilizadas e nenhum efeito pró-zona foi observado.

LITERATURA

1. Bagshave K.D. (1984) Clinical applications of hCG. Adv in Exper Med and Biol 176:313-324.
2. Braunstein G.D., Rasor J., Adler D. et al. (1976) Serum human chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy. Am J Obst Gynec 126:678.
3. Saller B., Clara R., Spottl G. et al. (1990) Testicular cancer secretes intact human chorionic gonadotropin (hCG) and its free B-subunit: Evidence that hCG (+hCG-B) assays are the most reliable in diagnosis and follow-up. Clin Chem 36/2:234-239.
4. Bogart M.H., Pandian M.R. and Jones O.W. (1987) Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. Prenatal Diagnosis 7:623-630.

GUIA DE SÍMBOLOS



Risco biológico



Limitação de temperatura



Use por

IVD Diagnóstico in vitro

Produzido por: EQUIPAR srl

Via G.Ferrari 21/N – 21047 Saronno (Va) Italy –

Tel. +39-029605422, +39-029605824 –

Fax +39-029607106 –

http://www.equipar.it e-mail: info@equipar.it

Importado por: Anfla Produtos para Diagnóstico Laboratorial Ltda

CNPJ: 05.774.798/0001-42

Téc. Resp. Dra. Flávia Lorusso de Oliveira Poty – CRF SP: 35416

Distribuído por:

RZ DE OLIVEIRA DIAGNÓSTICA - EPP

Rua Campevas, 627

CEP.05016-010 – São Paulo – SP

CNPJ 05.328.040/0001-80

Téc. Resp. Dra. Renata Zuculin de Oliveira - CRF-SP 37986

Para uso exclusivo diagnóstico "in vitro"

Reg. ANVISA 80189860167

POTENCIALMENTE INFECTANTE

CONSERVAR A TEMPERATURA 2°C A 8°C

PARA DESCARTE, CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE:

Quaisquer dúvidas técnicas no manuseio deste kit ou no seu

procedimento, contatar a nossa ASSESSORIA CIENTÍFICA.

Atendimento ao consumidor - Fone (011)-3871-0095

