

PATHOZYME[®] HUMAN CHORIONIC GONADOTROPHIN

Ref OD347

Test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a hCG în serul uman Depozitați la 2°C - 8°C . NU CONGELAȚI. Doar pentru diagnostic in-vitro.

INTRODUCERE

Gonadotropina corionică umană (hCG) este un hormon glicoproteic produs în mod normal de placenta în cursul sarcinii. Molecula de hCG este alcătuită din două subunități diferite, combinate, denumite alfa și beta. Subunitatea beta, cu o greutate moleculară de aproximativ 30.000 de daltoni, oferă specificitatea biologică și imunologică întregii molecule de hCG, datorită secvenței și conținutului unic de aminoacizi. Subunitatea alfa, cu o greutate moleculară de aproximativ 18.000 daltoni este esențial identică cu subunitatea alfa a hormonilor glicoproteici hipofizari: hormonul luteinizant (LH), hormonul stimulator al foliculilor ovarieni (FSH) și hormonul stimulator tiroidian (TSH).

Prezența hCG în urină sau ser imediat după concepție și creșterea rapidă a concentrației sale îl face un indicator ideal pentru detecția și confirmarea sarcinii. Cu toate acestea nivelurile crescute de hCG sunt deasemenea frecvent asociate cu neoplazmele trofoblastice și non-trofoblastice; aceste condiții trebuie considerate înainte de a pune diagnosticul de sarcină.

Testele imunologice folosind anticorpii specifici subunității beta a hCG oferă o tehnică sensibilă și specifică permițând detecția precoce a sarcinii chiar din perioada primului ciclu menstrual absent. La femeile însărcinate cu gemeni, s-au raportat niveluri niveluri de hCG mai mari decât cele prezente în cazul unor sarcini cu făt unic. Aceasta este probabil rezultatul creșterii masei placentale necesare pentru a susține mai mulți fetoși. Deasemenea, așa cum este de așteptat, cazurile de insuficiență placentară arată nivele de hCG mai mici decât cele prezente la o sarcină normală. Scăderea valorilor a fost deasemenea asociată cu amenințarea de avort și sarcină ectopică.

Următoarele preparate au fost testate ca fiind negative: TSH (Preparat de Referință Internațional OMS 80/558) la mai puțin de 250μU/ml, FSH (Preparat de Referință Internațional OMS - HMG) la mai puțin de 500 U/ml, Prolactină (Preparat de Referință Internațional OMS 84/500) la mai puțin de 500ng/ml și hCG (Preparat de Referință Internațional OMS 65/217) la mai puțin de 500 mU/ml. A fost detectată o reacție încrucișată la LH (Preparat de Referință Internațional OMS 68/40) la un nivel de 500 mU/ml.

UTILIZARE

PATHOZYME hCG este un test imunoenzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Gonadotropinei Corionice Umane (hCG) în serul uman.

PRINCIPIUL TESTULUI

Anticorpii monoclonali specifici anti-hCG sunt fixați de godeurile de microtitrare. Serurile de testat sunt adăugate și incubate cu Tampon Zero. Dacă hCG uman este prezent în probă se va combina cu anticorpii din godeu. Godeurile se spală apoi pentru a îndepărta urmele de probă și apoi se adaugă anticorpii hCG marcați cu peroxidază din hrean (Conjugat). Aceasta va determina formarea unei structuri tip sandwich între faza solidă și anticorpii legați de enzimă. După incubare, godeurile sunt spălate pentru a îndepărta anticorpii marcați nelegați. La adăugarea substratului (TMB) va apare o culoare doar în acele godeuri în care este prezentă enzima, ceea ce indică prezența hCG. Reacția enzimatică este oprită prin adăugarea acidului clorhidric și apoi este măsurată absorbanta la 450nm. Concentrația de hCG este direct proporțională cu intensitatea culorii probei de testat.

Acest test a fost calibrat cu Primul Preparat Internațional OMS / al treilea Standard Internațional 75/537.

CONȚINUT

Ref
OD347



Microtitre Plate	12 x 8 godeuri x 1
Godeuri detașabile "căpșuțe" cu anticorpi specifici conținută într-o pungă de folie ce conține un desicant.	
Cal A 0 mIU/ml	1 ml
Standard Referință: Ser uman fără hCG. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal B 5 mIU/ml	1 ml
Standard Referință: hCG diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal C 20 mIU/ml	1 ml
Standard Referință: hCG diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal D 50 mIU/ml	1 ml
Standard Referință: hCG diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal E 150mIU/ml	1 ml
Standard Referință: hCG diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal F 300mIU/ml	1 ml
Standard Referință: hCG diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Washbuf X20	50 ml
Tampon spălare concentrat: Tampon Tris care conține detergent. (Incolor)	
BUF AS	11 ml
Tampon zero. Tampon fosfat care conține proteine de stabilizare. Gata de lucru. (Verde)	
Conj	16.5 ml
Conjugat Anti- hCG HRP: Anti- hCG conjugați de HRP. Gata de lucru (Roșu)	

Subs	TMB	11ml
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)		

Solin	Stop	HCl	1 M	11ml
Soluție de Stopare: Acid clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (Incolor)				
Broșură instrucțiuni și Fișa de Date EIA				

MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE IN KIT

Micropipete: 100μl, 200μl, 1000μl și 5000μl
Virturi de pipetă de unică folosință
Hirtie absorbantă
Cititor de microplăci cu filtru de 450nm
Hirtie milimetrică
Sicidare de laborator foarte curată.

PRECAUȚIUNI

PATHOZYME hCG conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV I și II și pentru HbsAg, la nivel de donor unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o garanție completă că produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atât în timpul utilizării cât și sunt deșeurii. Nu ingerați.

Reactivii PATHOZYME hCG nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic atât când sunt folosite cât și când sunt deșeurii. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare PATHOZYME hCG este acid clorhidric diluat și este deci corozivă. Manipulați cu grijă. În caz de contact cu tegumentul spălați cu grijă cu apă.

Reactivii PATHOZYME hCG conțin Proclin™ 300* în concentrație de 1% ca și conservant. Este toxică atunci când este ingerată. În caz de contact, spălați bine cu apă de la robinet și consultați un medic.
* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată a ROHM & HAAS Limited.

DEPOZITARE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată pînă la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV (cu excepția depozitării standardelor) deoarece acesta va fi iremediabil alterat.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Recoltați o probă de sînge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sînge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt.

Nu folosiți pentru testare ser hemolizat, contaminat sau lipemic deoarece aceasta va influența nedorit rezultatele.

Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de 1 an. Probele decongelate trebuie amestecate bine înainte de a fi utilizate.

Nu folosiți ca și conservant Azida sodică deoarece aceasta va inhiba sistemul enzimatic Peroxidază.

Nu congelați-decongelați în mod repetat probele – veți obține rezultate false.

PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor înainte de utilizare. Evitați formarea spumei.

Tamponul Spălare:
Diluța Tamponul Spălare concentrat folosind o parte de Tampon Spălare concentrat cu 19 părți de apă distilată. Pentru fiecare strip detașabil cu 8 godeuri, pregătiți 25ml de Tampon Spălare diluat prin adăugarea a 1,25ml de Tampon Spălare concentrat la 23,75ml de apă distilată. Pregătiți Tampon Spălare diluat proaspăt înainte de procesarea fiecărui lot de reactivi. Este nevoie de Tampon Spălare în plus pentru amorsarea mașinilor automate de spălare.

Procedura de spălare este critică pentru rezultatul testului. Spălarea insuficientă va determina o joasă precizie și absorbante fals crescute.

LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor tipuri de probe, altele decât serul nu a fost validată pentru acest test. Nu există protocol de reutilizare pentru acest produs.

Atunci cînd faceți interpretarea testului este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie să fie stabilit doar pe baza rezultatelor unui singur test clinic.

PROCEDURA DE TESTARE

1. Aduceți toate componentele kit-ului și serul de testat la temperatura camerei (20°C-25°C) înainte de a începe testarea.
2. Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare procesare de probe. Fixați numărul dorit de godeuri în stativ. Înregistrați poziția standardelor și a serului de testat pe Fișa de Înregistrare a Datelor EIA.
3. Stripurile nefolosite trebuie resigilate în punga de folie conținând desicant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
4. Pipetați 50μl de Standarde, Control și ser de testat în godeurile stabilite și amestecați ușor timp de 30 de secunde.
5. Adăugați 100μl de tampon zero în fiecare godeu.
6. Amestecați bine 10 secunde. Este foarte important ca în acest stadiu să realizați un amestec complet.
7. Incubați placa 30 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
8. La sfârșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșeuri cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hirtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeuri să se afle un dezinfectant corespunzător.
9. Spălare Manuală. Umpleți godeurile cu minimum 300μl de tampon spălare. Întoarceți brusc placa deasupra recipientului de deșeuri biologice. Loviți placa de hirtie absorbantă.
10. Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
11. Spălare Automată: controlați ca 300μl de tampon de spălare să fie pipetați în fiecare godeu și ca în recipientul cu deșeuri să fie adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile de 5 ori. După ce spălați, îndepărtați excesul de lichid lovind placa inversată de o hirtie absorbantă.
12. Pipetați 150μl de conjugat anti-hCG HRP în fiecare godeu. Amestecați ușor timp de 5 secunde.
13. Incubați timp de 15 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
14. Spălați godeurile așa cum se descrie mai sus.
15. Pipetați 100μl de soluție substrat în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 5 secunde.
16. Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
17. Opriți reacția adăugând 100μl de Soluție Stopare în fiecare godeu.
18. Amestecați ușor timp de 30 de secunde până când culoarea albastră se modifică în galben.
19. Citiți imediat densitatea optică (nu mai târziu de 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucșată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece se pot contamina.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20° - 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blinde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

CALCULAREA REZULTATELOR

Calculați valoarea absorbantei medii (A_{550}) pentru fiecare set de standarde și probe. Construiți o curbă standard folosind valorile medii ale absorbantei pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de hCG în mU/ml folosind curba standard.

Dacă nivelurile controalelor sau ale probelor cu valori cunoscute nu dau rezultatele scontate, rezultatele testului trebuie considerate invalide.

Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Graficul produs de calibratori trebuie să aibă o formă hiperbolică cu densitatea optică (DO) citită la 450 nm proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mică de 0,75 iar DO a calibratorului F mai mare de 1,5 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Fiecare laborator trebuie să stabilească propriul domeniu de valori normale bazat pe populația de pacienți. hCG nu este detectat în mod normal în serul bărbaților sănătoși sau al femeilor care nu sunt gravide. Concentrația de hCG în serul femeilor gravide crește la 5-50 mU/ml la o săptămînă după nădare și continuă să crească exponențial în timpul primelor zece de săptămîni, ajungînd la un maxim de 100.000 - 200.000 mU/ml la sfîrșitul primului trimestru.

Sensibilitatea minimă a testului PATHOZYME hCG este de 2,0 mU/ml.

Concentrațiile de 500 UI/ml au fost măsurate cu PATHOZYME hCG fără apariția efectului de prozonă (Hook).

DATE DE EVALUARE

Rezultate calibrate față de competitori i importanți și cu standarde interne. Coeficientul de variație al PATHOZYME hCG este mai mic sau egal cu 10%.

La o evaluare a probelor între kit-ul PATHOZYME hCG produs de Omega și kit-ul Co Tube HCG IRMA produs de BioRad au fost generate următoarele date:

Număr de probe	53
Coeficient de corelație	0,994
Pantă	0,992
Intercept	-0,781
Medie Omega	267,5 mU/ml
Medie BioRad	264,5 mU/ml

La o evaluare a probelor dintre kit-ul PATHOZYME hCG produs de Omega și kit-ul hCG MAIAclone produs de Sero no au fost generate următoarele date.

Număr de probe	53
Coeficient de corelare	0,996
Pantă	0,902
Intercept	4,970
Medie Omega	267,5 mU/ml
Medie Sero no	246,2 mU/ml

Între kit-uri s-a dovedit o bună corelare.

BIBLIOGRAFIE

- (1) **Stenman, U. H., Tanner, P., Ranta, T., Schroder, J. and Seppala, M.** *Obstet. Gynaecol.* 1982;59:59:375-377.
- (2) **Kosasa, T. S. J.** *Reprod. Med.* 1981; 26:201.
- (3) **Dipietro, D. L.** *Laboratory Management.* 1981;19:1.
- (4) **Uotilla, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E. J.** *Immunol. Methods.* 1981;42:11-15.
- (5) **Messeyeff, R. and Malolini, R. J.** *Immunol. Methods.* 1975;8:233

GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

1. Pipetați 50μl de ser de testat sau Standarde și amestecați ușor timp de 30 de secunde.
2. Pipetați 100μl de Tampon Zero în fiecare godeu și amestecați bine timp de 10 secunde.
3. Incubați 30 minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
4. Aruncați conținutul godeurilor și spălați de cinci ori cu Tampon de Spălare.
5. Adăugați 150μl de Conjugat Anti-hCG HRP în fiecare godeu și amestecați ușor 5 secunde.
6. Incubați 15 minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
7. Aruncați conținutul godeurilor și spălați de cinci ori cu Tampon de Spălare.
8. Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu. Amestecați ușor timp de 5 secunde.
9. Incubați la întuneric 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
10. Adăugați 100μl Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor 30 de secunde.
11. Citiți imediat Densitatea Optică (nu mai târziu de 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu filtru de 450nm.

8084 ISSUE 7 Revised August 2011 **ROMANIAN**
© Omega Diagnostics Ltd., 2011



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY