

beta-HCG



Enzyme immunoassay for the quantitative determination of beta-HCG in human serum or plasma

Dosage immunoenzymatique pour la détermination quantitative de la beta-HCG dans le sérum ou le plasma humain.

Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de beta-HCG en suero o plasma humano

Only for in-vitro diagnostic use

English:	Page	2 to 6
Français	Page	7 à 11
Español:	Página	12 a 17

Literature / Bibliographie / Bibliografía	Page / Página	18
Packaging Materials / Matériels d'emballage / Materiales de embalaje	Page / Página	18
Symbols Key / Explication des symboles / Símbolos	Page / Página	19
Summary of Test Procedure / Résumé de la procédure / Resumen de la técnica	Page / Página	20

ENGLISH

1. INTRODUCTION

Human chorionic gonadotropin (hCG) is a glycoprotein hormone secreted in pregnancy, that is made by the embryo soon after conception and later by the syncytiotrophoblast (part of the placenta). Its role is to prevent the disintegration of the corpus luteum of the ovary and thereby maintain progesterone production that is critical for a pregnancy in humans. hCG may have additional functions, for instance it is thought that it affects the immune tolerance of the pregnancy.

Pregnancy tests measure the levels of hCG in the blood or urine to indicate the presence or absence of an implanted embryo. In particular, pregnancy tests employ an antibody that is specific to the β -subunit of hCG (β hCG). This is important so that tests do not make false positives by confusing hCG with LH and FSH.

β hCG is also secreted by some cancers including teratomas, choriocarcinomas. But, elevated levels cannot prove the presence of a tumor, and low levels do not rule it out.

2. INTENDED USE

Immunoenzymatic colorimetric method (ELISA) for quantitative determination of beta-HCG in human serum or plasma.

3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The beta-HCG assay is based on the simultaneous capture of HCG by a monoclonal antibody immobilized on the microplate and directed against the β -HCG fraction, and another monoclonal antibody conjugated with peroxidase horseradish (HRP) and directed against the α -HCG fraction. After the incubation, the bound/free separation is performed by a simple solid-phase washing. The enzyme HRP in the bound-fraction reacts with the substrate (H_2O_2) and the TMB substrate and develops a blue color that changes into yellow when the stop solution (H_2SO_4) is added. The color intensity is proportional to the β -HCG concentration in the samples. The β -HCG concentration in the sample is calculated based on a calibration curve.

4. MATERIALS

4.1. Reagents supplied

- **Anti- β -HCG IgG Coated Wells:** 12 breakapart 8-well snap-off strips coated monoclonal antibody direct against β -HCG subunit, in resealable aluminium foil.
- **Stop Solution:** 1 bottle containing 15 ml sulphuric acid, 0.15 mol/l (avoid any skin contact).
- **Conjugate (conc.):** 1 bottle containing 1 ml of monoclonal antibody direct against α -HCG subunit conjugated with horseradish peroxidase (HRP)
- **Incubation buffer:** 1 bottle containing 50 ml phosphate buffer 50 mM, pH 7.4; BSA 1 g/l.
- **TMB Substrate Solution:** 1 bottle containing 15 ml 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (H_2O_2 -TMB 0.26g/l) (avoid any skin contact).
- **Wash solution 50x conc.:** 1 bottle containing 20 ml (NaCl 45 g/l, Tween-20 55 g/l)
- **β -HCG Control:** 1 bottle containing 1 ml of a lot-specific, ready to use control. The concentration is mentioned on the label.
- **β -HCG Standards:** 6 bottles, 1 ml each. The standards are calibrated against the WHO 1st IRP 75/537 and have the following concentrations:

Standard 0:	0 mIU/ml
Standard 1:	1 mIU/ml
Standard 2:	5 mIU/ml
Standard 3:	20 mIU/ml
Standard 4:	100 mIU/ml
Standard 5:	400 mIU/ml

4.2. Materials supplied

- 1 Cover foil
- 1 Instructions for use (IFU)

4.3. Materials and Equipment needed

- ELISA microwell plate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450 nm, 620-630 nm
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 μ l
- Rotating mixer
- Distilled water
- Disposable tubes
- Timer

5. STABILITY AND STORAGE

The closed reagents are stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2...8 °C in the dark.

6. REAGENT PREPARATION

It is very important to bring all reagents, samples and standards to room temperature (22...28°C) for at least 30 minutes before starting the test run! At the end of the assay, store the reagents immediately at 2-8°C; avoid long exposure at room temperature.

6.1. Coated snap-off Strips

The ready to use break apart snap-off strips are coated with monoclonal antibody direct against β -HCG subunit. Store at 2...8 °C. *Immediately after removal of strips, the remaining strips should be resealed in the aluminium foil along with the desiccant supplied and stored at 2...8 °C; stability until expiry date.*

6.2. Conjugate

The bottle contains 1 ml of a concentrated solution with monoclonal antibody direct against α -HCG subunit conjugated with horseradish peroxidase (HRP)

Dilute immediately before use:

Add 10 μ l concentrated conjugate to 1.0 ml of Incubation Buffer. The quantity of diluted conjugate is proportional to the number of tests.

Mix gently with a rotating mixer for 10 min. Stable for 3 hours at room temperature (22-28° C).

6.3. Standards

Each of the 6 vials contains 1 ml standard solution of the concentration mentioned in 4.1. The standards are ready to use.

After first use the standard solutions are still stable for another 6 months if stored at 2...8 °C.

6.4. β -HCG control

The bottle contains 1 ml of a lot-specific control solution. The concentration is indicated on the label. The control is ready to use.

6.5. TMB Substrate Solution

The bottle contains 15 ml of a tetramethylbenzidine/hydrogen peroxide system. The reagent is ready to use and has to be stored at 2...8°C in the dark. *The solution should be colourless or could have a slight blue tinge. If the substrate turns into blue, it may have become contaminated and should be thrown away. After first use the TMB substrate solution is still stable for another 6 months if stored at 2...8 °C.*

6.6. Stop Solution

The bottle contains 15 ml 0.15 M sulphuric acid solution (H314). This ready to use solution has to be stored at 2...8°C.

After first use stable until expiry date.

6.7 Wash Solution

Dilute content of concentrated wash solution to 1000 ml with distilled water in a suitable storage container. For smaller volumes respect the 1:50 ratio. The diluted wash solution is stable for 30 days at 2...8 °C.

7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Use human serum or plasma samples with this assay. If the assay is performed within 48 hours after sample collection, the specimens should be kept at 2...8°C; otherwise, they should be aliquoted and stored deep-frozen (-20 to -70°C). If samples are stored frozen, mix thawed samples well before testing. *Avoid repeated freezing and thawing.*

Samples with concentration of β -HCG over 400 mIU/ml have to be diluted with Incubation buffer.

7.1. Precaution

- Avoid the exposure of TMB substrate to direct sunlight, metal or oxidants. Do not freeze the solution.
- Maximum precision is required for dispensation of the reagents.
- This method allows the determination of beta-HCG from 1 to 400 mIU/ml.

8. ASSAY PROCEDURE

8.1. Test Preparation

Please read the test instructions for use carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the instructions for use as described. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all specimens and standards should be carefully established. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve.

Please allocate at least:

1 well	(e.g. A1)	for the substrate blank
2 wells	(e.g. B1+C1)	for standard 0
2 wells	(e.g. D1+E1)	for standard 1
2 wells	(e.g. F1+G1)	for standard 2
2 wells	(e.g. H1+A2)	for standard 3
2 wells	(e.g. B2+C2)	for standard 4
2 wells	(e.g. D2+E2)	for standard 5
2 wells	(e.g. F2+G2)	for control

It is recommended to determine standards, control and patient samples in duplicate.

Perform all assay steps in the order given and without any appreciable delays between the steps.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each standard and each patient sample.

1. Dispense 25 µl standards, control and samples into their respective wells. Add 100 µl diluted conjugate to each well. Leave well A1 for substrate blank.
2. Cover wells with the foil supplied in the kit.
3. **Incubate for 1 hour at room temperature.**
4. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content of the wells and wash each well three times with 300 µl diluted wash solution. Avoid overflows from the reaction wells. The soak time between each wash cycle should be >5sec. During each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbing paper towel. At the end carefully remove remaining fluid by tapping strips on tissue paper prior to the next step! (if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times).

Note: Washing is critical! Insufficient washing results in poor precision and falsely elevated absorbance values.

5. Dispense 100 µl TMB Substrate Solution into all wells.
6. **Incubate for exactly 15 min at room temperature in the dark.**
7. Dispense 100 µl Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate Solution. Shake the microplate gently.
Any blue colour developed during the incubation turns into yellow.
8. Read the absorbance at 450 nm against a reference wavelength of 620 -630 nm or against blank within 5 minutes.

8.2. Measurement

Adjust the ELISA Microwell Plate Reader **to zero** using the **substrate blank in well A1**.

If - due to technical reasons - the ELISA reader cannot be adjusted to zero using the substrate blank in well A1, subtract the absorbance value of well A1 from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!

Measure the absorbance of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each standard and patient sample.

Where applicable calculate the **mean absorbance values** of all duplicates.

9. RESULTS

9.1. Calculation of results

Calculate the mean absorbance for each point of the standard curve and each sample. Plot the mean value of absorbance of the standards against concentration. Draw the best-fit curve through the plotted points. (Four Parameter Logistic or Sigmoide).

Interpolate the values of the samples on the standard curve to obtain the corresponding values of the concentrations expressed in mIU/ml.

9.2. Reference Values

Each laboratory must establish its own normal ranges based on patient population.

The serum or plasma β -HCG values are comprised in the following intervals:

Normal women:		< 8 mIU/ml
Pregnancy:	1. week	3 - 100 mIU/ml
	2. week	10 - 1000 mIU/ml
	3. week	100 - 10000 mIU/ml
	4. week	1000 - 100000 mIU/ml
	2. month	15000 - 200000 mIU/ml
	3. month	10000 - 100000 mIU/ml

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a "normal" population in a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation. Therefore each laboratory should consider the range given by the manufacturer as a general indication and produce their own range of expected values based on the indigenous population where the laboratory works.

10. QUALITY CONTROL

Each laboratory should assay controls at normal, high and low levels range of β -HCG for monitoring assay performance. These controls should be treated as unknowns and values determined in every test procedure performed. Quality control charts should be maintained to follow the performance of the supplied reagents. Pertinent statistical methods should be employed to ascertain trends. The individual laboratory should set acceptable assay performance limits. In addition, maximum absorbance should be consistent with past experience. Significant deviation from established performance can indicate unnoticed change in experimental conditions or degradation of kit reagents. Fresh reagents should be used to determine the reason for the variations.

11. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

11.1. Precision

Intra Assay Variation

Within run variation was determined by replicate determination (16x) of three different control sera in one assay. The within assay variability is $\leq 7.6\%$.

Inter Assay Variation

Between run variation was determined by replicate measurements of three different control sera in different lots. The between assay variability is $\leq 8.8\%$.

11.2. Specificity

The cross reactivity values of the β -HCG ELISA have been calculated on a weight/ weight basis.

β -HCG	100.0 %
hFSH	3.0 %
HCG	4.0 %
hTSH	0.02%

11.3. Analytic Sensitivity

The lowest detectable concentration of human β -HCG that can be distinguished from standard 0 is 0.09 mIU/ml at the 95% confidence limit.

11.4. Accuracy

The recovery of 6.25 – 12.5 – 25 – 50 mIU/ml of β -HCG added to sample gave an average value (\pm SD) of $99.2\% \pm 4.1\%$ with reference to the original concentrations.

11.5. Correlation with RIA

The NovaTec beta-HCG ELISA was compared to another commercially available beta-HCG assay. Serum samples of 49 females were analysed according in both test systems.

The linear regression curve was calculated:

$$y = 0.94x - 0.02$$

$$r = 0.96 \text{ (} r^2 = 0.92 \text{)}$$

11.6. Hook Effect

The beta-HCG ELISA, a competitive enzyme immunoassay, shows no Hook Effect up to 250.000 mIU/ml.

12. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the specimen may affect the absorbance values.

13. PRECAUTIONS AND WARNINGS

- The test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use by professional persons. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.

- All components of human origin used for the production of these reagents have been tested for anti-HIV antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg and have been found to be non-reactive. Nevertheless, all materials should still be regarded and handled as potentially infectious.
- Do not interchange reagents or strips of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- When using automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately tested. To improve the performance of the kit on ELISA automatic systems, it is recommended to increase the number of washes.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.
- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous and corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- The NovaTec ELISA is only designed for qualified personnel who are familiar with good laboratory practice.

WARNING: Some reagents contain small amounts of Proclin 300® as preservative. Avoid the contact with skin and mucous membranes!

13.1. Disposal Considerations

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

For information about the packaging materials refer to PACKAGING MATERIALS.

14. ORDERING INFORMATION

REF

DNOV034

beta-HCG

(96 Determinations)

FRANÇAIS

1. INTRODUCTION

L'hormone chorionique gonadotrope (HCG) est une hormone glycoprotéique sécrétée pendant la grossesse, qui est synthétisée par l'embryon peu après la conception et plus tard par le syncytiotrophoblaste (parti du placenta). Son rôle est de prévenir la dégradation du corps jaune de l'ovaire et de maintenir ainsi la production de progestérone, dangereuse pour la grossesse. La HCG peut avoir d'autres fonctions, par exemple il est émit que cela affecte la tolérance immune de la grossesse.

Les tests de grossesse mesurent les niveaux de HCG dans le sang ou dans les urines pour indiquer la présence ou non d'embryon. En particulier, les tests de grossesse utilisent un anticorps spécifique de la sous unité β de la HCG (β HCG). Il est important que les tests ne fassent pas de faux positifs en confondant la HCG avec LH et FSH.

La β -HCG est aussi sécrétée par des cancers comme les tératomes ou les choriocarcinomes. Cependant, les niveaux élevés ne peuvent prouver la présence de tumeur et les faibles niveaux ne l'excluent pas.

2. INDICATION D'UTILISATION

La méthode colorimétrique immunoenzymatique compétitive est utilisée pour la détermination quantitative de la β -HCG dans le sérum ou le plasma humain.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage de la β -HCG est basé sur la liaison simultanée de la β -HCG immobilisé sur la microplaque et dirigé contre la fraction β -HCG, conjuguée avec la peroxydase de raifort (HRP) et dirigé contre la fraction α -HCG. Après l'incubation la séparation reliée/libre est exécutée par une lessive de phase ferme simple. L'enzyme HRP dans la fraction reliée réagit avec le substrat (H_2O_2) et le TMB substrate et développe une couleur bleue qui change dans le jaune quand l'acide sulfurique (H_2SO_4) est ajoutée. L'intensité en couleur est proportionnelle au β -HCG concentration dans l'échantillon. On calcule la concentration β -HCG dans l'échantillon basé sur une courbe de calibrage.

4. MATERIELS

4.1. Réactifs fournis

- **Puits recouverts d'IgG Anti- β -HCG** : 12 bandes détachables enduites avec l'anticorps monoclaux direct contre la sous-unité β -HCG, en sachet d'aluminium refermable.
- **Solution stop** : 1 flacon contenant 15 ml d'acide sulfurique, 0.15 mol/l (éviter tout contact avec la peau).
- **Conjugué (conc.)** : 1 flacon contenant 1 ml d'anticorps de monoclaux direct contre la sous-unité α -HCG s'est conjugué avec le raifort peroxidase (HRP)
- **Tampon d'incubation** : 1 flacon contenant 50 ml de tampon phosphate à 50 mM, pH 7.4; BSA 1 g/l.
- **Solution de TMB** : 1 flacon contenant 15 ml de 3, 3', 5, 5'-Tétraméthylbenzidine (H_2O_2 -TMB 0.26g/l) (éviter tout contact avec la peau).
- **Solution de rinçage concentrée (50x)** : 1 flacon contenant 20 ml (NaCl 45 g/l, Tween-20 55 g/l)
- **Contrôle β -HCG**: 1 flacon prêt à l'emploi contenant 1 ml d'un lot spécifique. La concentration est indiquée sur l'étiquette.
- **Étalons β -HCG**: 6 flacons, 1 ml chacun. Les étalons sont calibrés selon l'OMS (1^{er} IRP 75/537) et ont les concentrations suivantes :
 - Etalon 0: 0 mIU/ml
 - Etalon 1: 1 mIU/ml
 - Etalon 2: 5 mIU/ml
 - Etalon 3: 20 mIU/ml
 - Etalon 4: 100 mIU/ml
 - Etalon 5: 400 mIU/ml

4.2. Matériels fournis

- 1 couvercle autocollante
- 1 notice d'utilisation

4.3. Matériels et équipements requis

- Lecteur de microplaques ELISA, pour mesurer l'absorbance à 450 nm, 620-630 nm
- Equipement manuel ou automatique pour le rinçage des puits
- Pipettes permettant de délivrer un volume entre 10 et 1000 μ l
- Vortex
- Eau distillée
- Tubes jetables
- Chronomètre

5. STABILITE ET CONSERVATION

Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette s'ils sont conservés entre 2°C à 8°C dans l'obscurité.

6. PREPARATION DES REACTIFS

Il est très important que tous les réactifs, échantillons et contrôles soient remis à température ambiante (22°C – 28°C) depuis au moins 30 minutes avant de commencer le dosage ! À la fin de l'essai, conservez les réactifs immédiatement à 2-8 °C ; évitez la longue exposition à la température ambiante.

6.1. Bandes enduites détachables

Les bandes détachables sont enduites avec l'anticorps monoclaux direct contre la sous-unité β -HCG. Conserver de 2°C à 8°C. *Après avoir prélevé les bandes détachables nécessaires, refermer immédiatement les autres dans le sachet d'aluminium avec le déshydratant fourni et les conserver de 2°C à 8°C ; elles sont stables jusqu'à la date de péremption.*

6.2. Conjugué

Le flacon contient une solution concentrée d'1 ml d'anticorps de monoclaux direct contre la sous-unité α -HCG s'est conjugué avec le raifort peroxidase (HRP)

Diluer juste avant utilisation :

Ajouter 10 μ l de conjugué concentré dans 1 ml de tampon d'incubation. La quantité de dilués conjugués est proportionnelle au nombre d'épreuves.

Mélanger doucement avec un vortex pendant 10 minutes. Le produit est stable pendant 3 heures à température ambiante. (22-28° C).

6.3. Etalons

Chacune des 6 fioles contient 1 ml de solution étalons d'une concentration mentionnée au point 4.1. Les étalons sont prêts à l'emploi. *Après la première utilisation les solutions étalons sont stables pendant 6 mois si elles sont conservés entre 2°C et 8°C.*

6.4. Contrôle β -HCG

Le flacon contient une solution de contrôle de 1 ml. La concentration est indiquée sur l'étiquette. La solution est prêt à l'emploi.

6.5. Solution de TMB

Le flacon contient 15 ml d'un mélange de peroxyde d'hydrogène et de tétraméthylbenzidine. Le réactif est prêt à l'emploi et doit être conservé entre 2°C à 8°C à l'obscurité. *La solution doit être incolore ou avoir une légère teinte bleue. Si le substrat devient bleu, il a pu être contaminé et doit être remplacé. Après la première utilisation, la solution est stable pendant 6 mois si elle est conservée entre 2°C et 8°C.*

6.6. Solution stop

Le flacon contient 15 ml d'une solution d'acide sulfurique à 0.15 M (H314). Cette solution est prête à l'emploi et doit être conservée entre 2°C et 8°C. *Après la première utilisation, la solution est stable jusqu'à la date d'expiration.*

6.7 Solution de lavage

Diluer la solution de lavage de 1000 ml avec de l'eau distillée dans un récipient adapté. Respecter le ratio 1:50 pour les lus petits volumes. *La solution de lavage diluée est stable pendant 30 jours entre 2°C et 8°C.*

7. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Utiliser des échantillons de sérum ou de plasma humain pour ce dosage. Si le dosage est effectué dans les 48 heures après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés entre 2°C à 8°C ; sinon ils doivent être aliquotés et congelés (-20°C et -70°C). Si les échantillons sont congelés, bien mélanger les échantillons congelés avec le dosage. *Eviter les répétitions de congélation décongélation.*

Les échantillons de β -HCG de concentration supérieure à 400 mIU/ml doivent être diluées avec le tampon d'incubation.

7.1 Précaution

- Eviter l'exposition du TMB au rayon du soleil, aux métaux et aux oxydants. Ne pas congeler la solution.
- Un maximum de précaution est nécessaire pour l'utilisation des réactifs.
- Cette méthode permet la détermination de β -HCG de 1 à 400 mIU/ml.

8. PROTOCOLE DU DOSAGE

8.1. Préparation du dosage

Lire attentivement la notice d'utilisation **avant de** réaliser le dosage. La fiabilité des résultats dépend du suivi strict d'utilisation comme décrit. Avant de commencer le dosage, déterminer le plan de distribution et d'identification des échantillons et des contrôles. Sélectionner le nombre de bandes ou de puits nécessaires et placer les sur le support. Le pipetage des échantillons ne doit pas prendre plus de 10 minutes afin d'éviter des résultats faussés. Si plusieurs plaques sont utilisées, il est recommandé de répéter la courbe dose/réponse. Réserver au moins :

1 puits	(ex. A1)	Pour le blanc
2 puits	(ex. B1+C1)	Pour l'étalon 0
2 puits	(ex. D1+E1)	Pour l'étalon 1
2 puits	(ex. F1+G1)	Pour l'étalon 2
2 puits	(ex. H1+A2)	Pour l'étalon 3
2 puits	(ex. B2+C2)	Pour l'étalon 4
2 puits	(ex. D2+E2)	Pour l'étalon 5
2 puits	(ex. F2+G2)	Pour le contrôle

Il est recommandé de déterminer les contrôles et les échantillons du patient en doublets.

Réaliser toutes les étapes du dosage dans l'ordre donné et sans interruption entre les étapes.

Un cône de pipette propre et jetable doit être utilisé pour distribuer chaque contrôle et échantillon.

1. Pipeter 25 µl d'étalons, de contrôles et d'échantillons dans leurs puits respectifs. Ajouter 100µl de conjugué dans chaque puits. Garder le puits A1 pour le blanc.
2. Couvrir les puits avec le couvercle fourni dans le kit.
3. **Incuber pendant 1 heure à température ambiante.**
4. À la fin de l'incubation, enlever le couvercle, aspirer le contenu des puits et laver chaque puits trois fois avec 300 µl de solution de lavage diluée. Eviter les débordements de puits de réaction. La durée de trempage entre chaque cycle doit être > 5sec. Pendant chaque pas de lessive, secouez doucement la plaque depuis 5 secondes et enlevez la solution d'excès en tapant la plaque inversée sur un essuie-mains en papier absorbant. A la fin, enlever soigneusement le liquide restant en tapotant les bandes sur du papier absorbant avant la prochaine étape ! (Si vous utilisez l'équipement automatisé, lavez les puits au moins 5 fois).

Note : *L'étape de lavage est très importante ! Un lavage insuffisant peut conduire à une précision faible et des valeurs d'absorbance faussement élevées.*

5. Pipeter 100 µl de solution de TMB dans tous les puits.
6. **Incuber pendant exactement 15 min à température ambiante à l'obscurité.**
7. Pipeter 100 µl de solution stop dans tous les puits dans le même ordre et à la même vitesse que pour la solution de TMB. Secouer doucement la microplaque.
La couleur bleue développée pendant l'incubation vire au jaune.
8. Mesurer l'absorbance à 450 nm contre une longueur d'onde de référence de 620 - 630 nm ou contre le blanc au cours de 5 minutes.

8.2. Mesure

Faire le **zéro** du lecteur ELISA à l'aide du blanc dans le puits A1.

Si - pour des raisons techniques - le lecteur d'ELISA ne peut pas être ajusté à zéro en utilisant le blanc dans le puits A1, soustraire la valeur d'absorbance du puits A1 de toutes les autres valeurs d'absorbance mesurées afin d'obtenir des résultats fiables !

Mesurer l'absorbance de tous les puits à **450 nm** et enregistrer les valeurs d'absorbance pour chaque contrôle et échantillons de patients. Le cas échéant, calculer les valeurs d'absorbances moyennes pour les doublets.

9. RESULTATS

9.1. Calcul des résultats

Calculer l'absorbance moyenne pour chaque point de la courbe étalon et de chaque échantillon. Tracer la valeur d'absorbance moyenne des étalons en fonction de la concentration. Dessiner le meilleur ajustement de la courbe sur les points tracés (4 paramètres logistiques).

Interpoler les valeurs des échantillons sur la courbe étalon pour obtenir les valeurs de concentrations correspondantes en mIU/ml.

9.2. Valeurs de Référence

Chaque laboratoire doit établir ses propres gammes standard basées sur une population de patient. Les valeurs de sérum ou de plasma β -HCG sont comprises dans les intervalles suivants :

Femme normale:		< 8 mIU/ml
Femme enceinte:	1. semaine	3 - 100 mIU/ml
	2. semaine	10 - 1000 mIU/ml
	3. semaine	100 - 10000 mIU/ml
	4. semaine	1000 - 100000 mIU/ml
	2. mois	15000 - 200000 mIU/ml
	3. mois	10000 - 100000 mIU/ml

Prenez garde au fait que la détermination d'une gamme de valeurs attendues pour une population "normale" d'une méthode donnée dépend de plusieurs facteurs, comme la spécificité et la sensibilité de la méthode utilisée et le genre de population étudiée. Par conséquent chaque laboratoire doit considérer que la gamme donnée comme une indication générale par le fabricant et produit sa propre gamme de valeurs attendues basée sur la population où est situé le laboratoire.

10. CONTROLE QUALITE

Chaque laboratoire doit faire des contrôles de dosage à des niveaux de gammes normales, élevées et faibles de β -HCG pour surveiller la performance des dosages. Ces contrôles doivent être considérés comme inconnus et les valeurs doivent être déterminées dans chaque test effectué. Les chartes de contrôles qualité doivent être maintenues pour suivre les performances des réactifs fournis. Des méthodes de statistiques pertinentes doivent être employées pour établir des tendances. Le laboratoire individuel doit établir des limites de performance de dosage acceptables. De plus, l'absorbance maximale doit être dans la même ligne que les expériences passées. Les déviations significatives provenant des performances établies peuvent indiquer un changement non remarquable dans les conditions expérimentales ou dans la dégradation des réactifs du kit. Les réactifs frais doivent être utilisés pour déterminer la raison des variations.

11. PERFORMANCE DU DOSAGE

11.1. Précision

Variation Intra Dosage

La variation intra dosage a été déterminée par un réplicat (x16) sur trois différents sérums dans un dosage. La variation intra dosage est $\leq 7.6\%$.

Variation Inter Dosage

La variation entre les dosages a été déterminée par un réplicat de mesures de 3 contrôles différents dans différents lots. La variation entre les dosages est $\leq 8.8\%$.

11.2. Spécificité

Les valeurs de réactivité croisée de la méthode ELISA pour la β -HCG ont été calculées en fonction des valeurs masse/masse.

β -HCG	100.0 %
HFSH	3.0 %
HCG	4.0 %
HTSH	0.02%

11.3. Sensibilité Analytique

La plus petite concentration détectable de β -HCG par l'étalon 0 est 0.09 mIU/ml avec un niveau de confiance 95%.

11.4. Exactitude

L'ajout de 6.25 – 12.5 – 25 – 50 mIU/ml de β -HCG aux échantillons a donné une valeur moyenne (\pm écart-type) de $99.2\% \pm 4.1\%$ en référence aux concentrations originales.

11.5. Comparaison avec RIA

La méthode ELISA de la β -HCG a été comparée à un autre dosage de β -HCG disponible dans le commerce. Les échantillons de sérum de 49 femmes ont été analysés selon les deux systèmes d'essais.

La régression linéaire a été calculée :

$$y = 0.94x - 0.02$$

$$r = 0.96 \text{ (} r^2 = 0.92 \text{)}$$

11.6. Effet crochet

La méthode ELISA de la β -HCG, un dosage immunoenzymatique compétitif, ne montre pas d'effet crochet supérieur à 250.000 mIU/ml.

12. LIMITES DE LA TECHNIQUE

Une contamination bactérienne ou des cycles de congélation-décongélation répétés peuvent affecter les valeurs d'absorbances.

13. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- La procédure de dosage, l'information, les précautions et mises en garde du mode d'emploi doivent être suivies de façon stricte. L'utilisation de ces kits avec des automates ou dispositifs similaires doit être validée. Aucun changement de la conception, composition et procédure de dosage, ainsi que l'utilisation avec d'autres produits non approuvés par le fabricant, ne sont autorisés ; seul l'utilisateur est responsable de tels changements. Le fabricant n'est pas responsable des faux résultats et des incidents dus à ces modifications. Le fabricant n'est pas responsable des résultats fournis par analyse visuelle des échantillons des patients.
- Uniquement pour diagnostic in vitro.
- Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoires (BPL) pour la manipulation de produits sanguins.
- Tous les composants d'origine humaine utilisés pour la fabrication de ces réactifs ont été analysés et ont été testés non réactifs aux antigènes HBs, en anticorps anti-VIH et en anticorps anti-VHC. Néanmoins, tous les produits doivent être considérés et traités comme étant potentiellement infectieux.
- Ne pas échanger les réactifs ou les bandes provenant de différents lots de production.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants avec les réactifs de ce kit.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Utiliser seulement des cônes de pipette, des distributeurs et du matériel de laboratoire propres.
- Ne pas échanger les bouchons des flacons, pour éviter la contamination croisée
- Fermer les flacons de réactifs immédiatement après l'utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- Avant une nouvelle utilisation, vérifier les flacons de conjugué et de contrôle, déjà utilisés, pour exclure une contamination microbienne.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, introduire les échantillons de patients et le conjugué exactement au fond des puits en évitant les éclaboussures.
- Quand l'utilisation a automatisé l'équipement, l'utilisateur a la responsabilité de s'assurer que le kit a été convenablement évalué. Pour améliorer la performance du kit sur les systèmes automatiques ELISA, on recommande d'augmenter le nombre de se lave.
- Les réactifs contiennent de la Procline 300® en tant que conservateur
- Le TMB est irritant, ce qui peut être nocif s'il est inhalé, ingéré ou absorbé à travers la peau. Eviter toute inhalation, ingestion ou contact avec la peau et les yeux pour prévenir de ces risques.
- La solution stop est une solution d'acide sulfurique diluée. L'aide sulfurique est un poison corrosif et peut être toxique s'il est ingéré. Eviter tout contact avec la peau ou les yeux pour prévenir des brûlures chimiques.
- L'addition de la solution de substrat initie la réaction cinétique qui se termine par l'ajout de solution stop. Par conséquent, l'addition de solution de substrat et de solution stop doit être fait durant la manipulation pour éliminer tous risques de dépassement de la durée de réaction.
- Suivre la notice pour les contrôles qualité dans les laboratoires médicaux en dosant les contrôles et/ou les sérums.
- Les échantillons microbiologiquement contaminés ne doivent pas être utilisés pour le dosage. Les échantillons hautement lipémiques ou hémolysés ne doivent pas être utilisés non plus.
- Les lecteurs de microplaques mesurent verticalement. Ne pas toucher le fond des puits.
- La méthode ELISA de NovaTec est destinée à un personnel qualifié qui est familiarisé avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

AVERTISSEMENT :	Aux concentrations utilisées, la Proclin 300® n'a que très peu de risque toxicologique s'il y a contact avec la peau ou les muqueuses !
-----------------	---

13.1. Elimination des déchets

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchet est réglementée par des lois et réglementations nationales et régionales. Contacter les autorités compétentes ou les sociétés de gestion des déchets pour obtenir des renseignements sur l'élimination des déchets dangereux.

Pour plus d'informations sur les matériaux d'emballage, reportez-vous à la section MATÉRIELS D'EMBALLAGE.

14. INFORMATION POUR LES COMMANDES

REF

DNOV034

beta-HCG

(96 Dosages)

ESPAÑOL

1. INTRODUCCIÓN

La hormona gonadotropinica humana (hCG) es una hormona secretada en el embarazo, que es desarrollada por el embrión y por el sincitiotrofoblasto (parte de la placenta) inmediatamente después de la concepción. Su función es evitar la desintegración del cuerpo lúteo del ovario y así mantener la producción de la progesterona que es crítica en el embarazo. La hCG tiene muchas funciones adicionales, por ejemplo, se piensa que afecta la tolerancia inmune del embarazo. La prueba de embarazo mide los niveles de hCG en la sangre o en orina como indicador de la presencia o ausencia de la implantación del embrión. En particular, la prueba de embarazo es empleada como un anticuerpo específico del subunidad- β de la hCG (β -HCG). Esto es importante para que en la prueba no se presenten falsos positivos por confusión con hormonas como la LH y FSH. La β -HCG también es secretada por algunos cánceres incluidos teratoma, carcinomas coriónicos. Niveles elevados pueden hacer pensar en la presencia de un tumor, y niveles bajos no lo descartan.

2. USO

Método inmunoenzimático colorimétrico (ELISA) para la determinación cuantitativa de β -HCG en suero o plasma humano.

3. FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El ensayo de β -HCG está basado en la captura simultánea de HCG por un anticuerpo monoclonal dirigido contra la fracción de la β -HCG inmovilizado en la microplaca y otro anticuerpo monoclonal dirigido contra la fracción de α -HCG conjugado con peroxidasa de rábano (HRP).

Después de la incubación, la separación de las fracciones libre y unida se obtiene mediante un simple lavado de la fase sólida.

La enzima HRP presente en la fracción unida cataliza la reacción entre el sustrato (H_2O_2) y el sustrato TMB desarrollando una coloración azul que cambia a amarillo tras la adición de la solución de parada (H_2SO_4).

La intensidad del color desarrollado es proporcional a la concentración de β -HCG presente en la muestra.

4. MATERIALES

4.1. Reactivos suministrados

- **Pozos recubiertos con anti- β -HCG:** 12 tiras de 8 pozos separables. Los pozos están recubiertas con anticuerpo monoclonal dirigido contra la subunidad β -HCG, empacados en una bolsa de papel de aluminio resellable.
- **Solución de parada:** 1 vial con 15 ml de ácido sulfúrico 0,15 mol/l (evitar cualquier contacto con la piel).
- **Conjugado (conc):** 1 vial contiene 1 ml de anticuerpo monoclonal dirigido contra la subunidad α -HCG conjugado con peroxidasa de rábano (HRP).
- **Buffer de incubación:** Un vial contiene 50 ml de tampón de fosfato 50 mM, pH 7.4; BSA 1g/l.
- **Solución de sustrato TMB:** 1 vial con 15 ml de 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina (H_2O_2 -TMB 0,26 g/l) (evitar cualquier contacto con la piel).
- **Solución de lavado 50x concentrado:** Un vial contiene 20 ml (NaCl 45 g/l, Tween-20 55 g/l)
- **Control:** 1 vial con 1 ml de una solución específica para el lote de control. La concentración se indica en la etiqueta de la botella
- **Estándares de β -HCG:** 6 botellas, de 1 ml cada una. Los estándares son calibrados frente a WHO 1^a IRP 75/537 y tienen las siguientes concentraciones:
 - Estándar 0: 0 mIU/ml
 - Estándar 1: 1 mIU/ml
 - Estándar 2: 5 mIU/ml
 - Estándar 3: 20 mIU/ml
 - Estándar 4: 100 mIU/ml
 - Estándar 5: 400 mIU/ml

4.2. Materiales suministrados

- 1 Lámina autoadhesiva
- 1 instrucciones de uso

4.3. Materiales y equipos necesarios

- Lector de de ELISA equipado para medir absorbancia a 450 nm, 620-630 nm
- Equipo manual o automático para el lavado de los pozos
- Pipetas para agregar volúmenes de entre 10 y 1000 μ l
- Mezclador de rotación
- Agua destilada
- Tubos desechables
- Temporizador

5. ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se almacenan a 2...8 °C en oscuridad.

6. PREPARACION DE LOS REACTIVOS

¡Es muy importante tener todos los reactivos, muestras, controles y estándares a temperatura ambiente (22...28 °C) durante al menos 30 minutos antes de iniciar la ejecución de la prueba! Al final del ensayo inmediatamente poner todos los reactivos a 2-8° C para evitar largos periodos a temperature ambiente.

6.1. Tiras recubiertas rompibles

Las tiras vienen listas para ser usadas y se rompen para separar los pozos. Están recubiertas con anticuerpo monoclonal dirigido contra la subunidad β -HCG. Se deben conservar a una temperatura de entre 2...8 °C. Abra la bolsa sólo cuando ésta se encuentre a temperatura ambiente. *Inmediatamente después de retirar las tiras que va a utilizar, asegúrese de guardar las tiras que no van a ser usados dentro de la bolsa de aluminio resellable junto con el desecante suministrado y almacenarla a una temperatura entre 2...8 °C; las tiras son estables hasta la fecha de caducidad.*

6.2. Conjugado

El vial contiene 1ml de un concentrado de solución de anticuerpo monoclonal dirigido contra la subunidad α -HCG conjugado con peroxidasa de rabano (HRP).

Diluir inmediatamente antes de su uso:

Añadir 10ul conjugado concentrado y 1,0 ml de tampón de incubación. La cantidad de conjugado que se debe preparar es proporcional al número de ensayos.

Mezclar suavemente durante 10 minutos con un mezclador giratorio.

Estable durante al menos 3 horas a temperatura ambiente (22-28°C).

6.3. Estándares de β -HCG

Cada uno de los seis viales contiene 1 ml de solución estándar de la concentración mencionada en el ítem 4.1. Los estándares están listos para uso. Después de abiertos son estables por 6 meses almacenados de 2 a 8 ° C.

6.4. Control β -HCG

El vial contiene 1 ml de un lote específico de solución de control. La concentración se indica en la etiqueta. El reactivo está listo para ser usado.

6.5. Solución de sustrato TMB

El frasco contiene 15 ml de un sistema de tetrametilbencidina/peróxido de hidrógeno. El reactivo está listo para ser usado y debe ser almacenado a 2...8 °C en oscuridad. *La solución debe estar incolora o puede tener un ligero tinte azul. Si el sustrato se torna azul, esto indica que puede haberse contaminado y por lo tanto debe desecharse.* Después de abiertos son estables por 6 meses almacenados de 2 a 8 ° C.

6.6. Solución de parada

El frasco contiene 15 ml de solución de ácido sulfúrico 0,15 M (H314). Esta solución esta lista para ser usada y debe ser almacenada a 2...8 °C.

6.7. Solución de Lavado

Diluya la solución de lavado concentrada en 1000 ml de agua destilada. Para volúmenes más pequeños asegúrese de respetar la relación 1:50. La solución diluida es estable por 30 días almacenado de 2 a 8 ° C.

7. RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

La determinación de b-HCG se puede realizar en el plasma, así como en el suero. Si el ensayo se realiza dentro de las 48 horas después de la toma de muestras, las muestras deben mantenerse a 2-8 ° C, de otra forma deberían ser en alícuotas y almacenar en congelación (-20 a -70 ° C). Si las muestras se almacenan en congelación, mezclar bien las muestras descongeladas antes de realizar la prueba. Evite congelar y descongelar repetidamente.

Las muestras con concentración de b-HCG más de 400 mUI / ml deben ser diluidas con tampón de incubación.

7.1. Precauciones

- Evitar la exposición del sustrato TMB a la luz solar directa, metal u oxidantes. Non congelar la solución.
- La máxima precisión es necesaria al momento de dispensar los reactivos
- Este método permite la determinación de beta-HCG de 1 a 400 mIU/ml.

8. PROCEDIMIENTO

8.1. Preparación para la prueba

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones de uso del ensayo **antes** de realizar el ensayo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los estándares/controles. Seleccione el número necesario de tiras de microtitulación o pozos e insértelos en el soporte. El pipeteo de muestras no debe tomar más de diez minutos para evitar la deriva del análisis. Si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta. Por favor, destinar al menos.

1 pozo (por ejemplo, A1)	para el blanco
2 pozos (por ejemplo, B1+C1)	para el estándar 0
2 pozos (por ejemplo, D1+E1)	para el estándar 1
2 pozos (por ejemplo, F1+G1)	para el estándar 2
2 pozos (por ejemplo, H1+A2)	para el estándar 3
2 pozos (por ejemplo, B2+C2)	para el estándar 4
2 pozos (por ejemplo, B2+C2)	para el estándar 5
2 pozos (por ejemplo, D2+E2)	para el control

Se recomienda determinar los estándares y muestras por duplicado.

Realice todos los pasos del ensayo en el orden indicado y sin retrasos apreciables entre los pasos.

Debe usar una punta desechable limpia para la dosificación de cada estándar y cada muestra del paciente.

1. Agregue 25 µl de estándares, controles y muestras en sus respectivos pozos. Adicione 100 µl del conjugado diluido a cada pozo. Deje el pozo A1 libre para el blanco del sustrato.
2. Cubra los pozos con la lámina autoadhesiva incluida en el paquete.
3. **Incube durante 1 hora a temperatura ambiente**
4. Cuando se complete el tiempo de incubación, retire la lámina autoadhesiva, aspire el contenido de los pozos y lave cada pozo tres veces con 300 µl de solución de lavado diluido. Evite desbordamientos entre los pozos de reacción. El tiempo de remojo entre cada ciclo de lavado debe ser >5 seg. Agite suavemente la placa durante 5 segundos en cada paso de lavado. ¡Al finalizar, retire con cuidado el líquido sobrante golpeando las tiras sobre una toalla de papel antes de seguir al siguiente paso! (si se utiliza un equipo automático, lavar los pocillos al menos 5 veces).

Nota: ¡El lavado es crítico! Un lavado insuficiente resulta en una mala precisión y valores de absorbancia falsamente elevados.

5. Agregue 100 µl de solución de sustrato TMB en todos los pozos.
6. **Incube durante exactamente 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.**
7. Agregue 100 µl de solución de parada en todos los pozos en el mismo orden y a la misma velocidad que agregó la solución de sustrato TMB. Agite la microplaca. *Cualquier color azul desarrollado durante la incubación se convertirá en amarillo.*
8. Leer la absorbancia a 450 nm frente una segunda lectura de referencia a 620-630 nm o frente al blanco entre 5 minutos.

8.2. Lectura

Ajuste el lector de placas de micropozos de ELISA a cero usando el blanco de sustrato del pozo A1.

¡Si - por razones técnicas - el lector de ELISA no se puede ajustar a cero con el blanco del sustrato en el pozo A1, restar el valor de absorbancia del pocillo A1 de todos los valores de absorbancia otras medidas con el fin de obtener resultados fiables!

Mida la absorbancia de todos los pozos a **450 nm** y registre los valores de absorbancia para cada estándar y muestra de paciente.

Cuando sea necesario, calcule la **absorbancia media** de los duplicados.

9. RESULTADOS

9.1. Cálculo de los resultados

Calcule la absorbancia media para cada punto de la curva estándar y cada muestra. Grafique el valor medio de absorbancia de los estándares versus la concentración. Dibuje la curva que mejor se ajuste a los puntos trazados (Ej.: Logística de cuatro parámetros o sigmoideo). Interpole los valores de las muestras en la curva estándar para obtener los valores correspondientes para las concentraciones expresadas en mIU/ml.

9.2. Valores de referencia

Cada laboratorio debe establecer sus rangos de valores normales basados en los pacientes de su población. La β -HCG en suero o plasma son comprendidos en los siguientes valores:

Mujeres Normales:		<8 mIU/ml
Embarazo:	1. Semana	3-100 mIU/ml
	2. Semana	10-1000 mIU/ml
	3. Semana	100-10000 mIU/ml
	4. Semana	1000-100000 mIU/ml
	2. Meses	15000-200000 mIU/ml
	3. Meses	10000-100000 mIU/ml

Es importante señalar que la determinación de un rango de valores esperados en un método dado para una población "normal" depende de muchos factores, tales como la especificidad y sensibilidad del método en uso, y la población en estudio. Por lo tanto, cada laboratorio debe considerar el intervalo especificado por el fabricante como una guía general y producir su propio rango de valores calculados en base al estadístico obtenido por el laboratorio, donde reside la población local.

10. CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe evaluar sus controles que correspondan a niveles normal, alto y bajo del β -HCG para supervisar el desempeño del ensayo. Estos controles deben ser tratados como muestras desconocidas y se deben determinar sus valores cada vez que se realice el ensayo. Se deben llevar gráficas de estos controles de calidad para hacerle seguimiento al desempeño de los reactivos. Se deben emplear los métodos estadísticos pertinentes para verificar las tendencias. Cada laboratorio debe establecer los límites aceptables de desempeño para el ensayo. Otros parámetros que se deben controlar son los interceptos al 80, 50 y 20% de la curva estándar para evaluar la reproducibilidad intercorrida. Además, la absorción máxima debe ser consistente con la experiencia del laboratorio. Una desviación significativa del desempeño establecido puede indicar un cambio en las condiciones experimentales o la degradación de los reactivos. Deben usarse reactivos frescos para determinar la razón de las variaciones.

11. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPEÑO

11.1. Precisión

Variación intraensayo

La variación intracorrida fue determinada por mediciones repetidas (16x) de tres sueros control diferentes en un mismo ensayo. La variabilidad intracorrida del ensayo es $\leq 7.6\%$.

Variación interensayo

La variación intercorrida fue determinada por mediciones repetidas de tres sueros control diferentes con lotes distintos. La variabilidad interensayo es $\leq 8.8\%$.

11.2. Especificidad

Los valores de reactividad cruzada de la β -HCG se han calculado sobre una base peso / peso:

β -HCG	100.0%
hFSH	3.0%
HCG	4.0%
hTSH	0.02%

11.3. Sensibilidad Analítica

La concentración detectable más baja de β -HCG que se puede distinguir del estándar 0 es 0.09 mIU/ml con un límite de confianza del 95%.

11.4. Exactitud

La recuperación de 6.25 – 12.5 – 25 – 50 mIU/ml de β -HCG añadidos a una muestra resultó en un valor medio (\pm DE) de $99.2\% \pm 4.1\%$ con respecto a la concentración original.

11.5. Comparación Con RIA

La beta-HCG de NOVATEC por ELISA, fue comparada con otro ensayo de β -HCG comercial disponible. Se analizaron 49 muestras de suero de mujeres de acuerdo a los procedimientos de cada uno de los kits.

La curva de regresión lineal se calculó:

$$y=0.94 x - 0.02$$

$$r=0.96 (r^2=0.92)$$

11.6. Efecto Hook

La beta-HCG de NOVATEC por ELISA, un enzoinmunoanálisis competitivo, no muestra ningún efecto gancho hasta 250.000 mUI/ ml.

12. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La contaminación bacteriana o de ciclos repetidos de congelación y descongelación de la muestra puede afectar los valores de absorbancia.

13. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- El procedimiento de prueba, la información, precauciones y advertencias contenidas en las instrucciones de uso deben ser seguidas estrictamente. El uso de los kits con analizadores y equipos similares debe ser validado. No está autorizado realizar ningún cambio en el diseño, composición y procedimiento del ensayo, así como ningún uso en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario es responsable de tales cambios. El fabricante no se hace responsable por resultados falsos o por cualquier incidente causado por esta razón. El fabricante no se responsabiliza por los resultados obtenidos mediante el análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Sólo para uso en diagnóstico in vitro y por personal experto. No es para uso interno o externo en humanos o animales.
- Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio (GL) en el manejo de las muestras sanguíneas y sus derivados
- Todos los componentes de origen humano utilizados para la producción de estos reactivos han sido examinados para determinar la presencia de anticuerpos anti-VIH, anticuerpos anti-HCV y anticuerpos anti-HBsAg y se ha determinado que no son reactivos. Sin embargo, todo el material debe ser considerado y tratado como potencialmente infeccioso.
- No intercambiar reactivos o tiras de diferentes lotes de producción.
- No se deben utilizar reactivos de otros fabricantes en combinación con los reactivos de este kit.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Use sólo puntas para micropipeta, dispensadores y material de laboratorio limpio.
- No intercambie las tapas de los viales. Esto evita la contaminación cruzada.
- Cierre los viales de los reactivos con fuerza inmediatamente después de usarlos para evitar la evaporación y contaminación microbiana.
- Después de abrir el kit por primera vez y almacenarlo, verifique que los viales del conjugado y los estándares no presenten contaminación microbiana antes de continuar usándolo.
- Para prevenir la contaminación cruzada y la obtención de resultados falsamente elevados, pipetee las muestras de los pacientes y dispense el conjugado con precisión hacia el fondo de los pozos evitando que se produzcan salpicaduras.
- Si utiliza un equipo automático, es responsabilidad del usuario asegurar que la metodología aplicada haya sido debidamente validada. Para mejorar el rendimiento del kit en los sistemas automatizados de ELISA, se recomienda aumentar el número de lavados.
- El material de origen animal usado en la preparación del kit han sido obtenidos de animales certificados como saludables y las proteínas bovinas fueron obtenidas de países no infectados por BSE, pero estos materiales deben ser manejados como potencialmente infecciosos.
- Algunos reactivos contienen pequeñas cantidades de Proclin 300® como conservante. Evite el contacto con la piel y las mucosas.
- El sustrato de TMB contiene un irritante, que puede ser nocivo si es inhalado, ingerido o absorbido por la piel. Para evitar lesiones, evite la inhalación, ingestión o contacto con la piel y los ojos.
- La solución de parada consiste en una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo y se puede tóxico si se ingiere. Para evitar quemaduras, evitar contacto con la piel y los ojos.
- Además de la solución de sustrato TMB inicia una reacción cinética, que es terminada por la adición de la solución de parada. Por lo tanto, el sustrato TMB y la solución de parada debe ser añadido en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
- Tenga en cuenta las directrices del control de calidad en los laboratorios médicos para los controles de ensayo y / o pools de sueros para determinar su desempeño.
- Muestras con contaminación microbiana no debe ser utilizado en el ensayo. Muestras altamente hemolizadas o lipémicas
- La prueba por NovaTec ELISA es únicamente para personal calificado que esté familiarizado con buenas prácticas de laboratorio.

ADVERTENCIA: Algunos reactivos contienen pequeñas cantidades de Proclin 300® como conservante. Evite el contacto con la piel y las mucosas.

13.1. CONSIDERACIONES PARA EL DESCARTE

Los residuos de productos y preparaciones químicos generalmente son considerados como residuos peligrosos. La eliminación de éste tipo de residuos está regulada por leyes y regulaciones nacionales y regionales. Póngase en contacto con las autoridades locales o empresas de manejo de residuos para que lo asesoren sobre cómo eliminar los residuos peligrosos.

Para obtener información sobre los materiales de embalaje, consulte MATERIALES DE EMBALAJE.

14. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

REF

DNOV034

beta-HCG

(96 Determinations)

LITERATURE / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFÍA

Wisdom, G.B., Clin. Chem. (1976) 22/8, 1243 – 1255

Shome, B. and Parlow, A.F.; J. Clin. Endocr. Metab. (1974) 39, 199 – 202

Uotila, M., Ruoslahti, E., Engvall, E.J., J. Immunol. Methods (1981) 42, 11 – 15


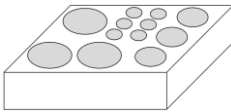


Acosta, A.A.M.D. and Wright, G.L., Journal of Clinical Immunoassays (1983) 6, 41

Cohen, K.L., Metabolism (1977) 26, 1165 – 1177












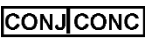



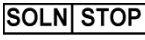

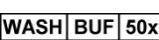

Lindstedt (1982) Scand. J. Clin. Lab. Invest 42, 201

Chien (1987) J. Clin. Endocr. Metab. 64, 313

PACKAGING MATERIALS / MATÉRIELS D'EMBALLAGE / MATERIALES DE EMBALAJE

 PAP 21	 PAP 21	 PAP 22	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; text-align: center;">MTP</div>  ALU / LDPE 90
--	--	--	--

SYMBOLS KEY / EXPLICATION DES SYMBOLES / SIMBOLOS

	Manufactured by / Fabriqué par/ Fabricado por
	In Vitro Diagnostic Medical Device/ Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Producto para diagnóstico In vitro
	Lot Number / Numéro de lot / Número de lote
	Expiration Date / Date de péremption / Fecha de caducidad
	Storage Temperature / Température de conservation / Temperatura de almacenamiento
	Keep away from direct sun / Protéger de rayonnement solaire / Proteger de la luz solar.
	CE Mark/ Marquage CE / Marca CE
	Unique Device Identifier / identification unique des dispositifs / identificación única del producto
	Catalogue Number/ Référence du catalogue / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Consulter la notice d'utilisation / Consulte las Instrucciones de Uso
	Microplate / Microplaque/ Microplaca
	Conjugate conc. / Conjugué conc./ Conjugado conc.
	Control / contrôle / control
	Incubation buffer/ Tampon d'incubation / Buffer de incubación
	Calibrator resp. Standard / Callibrateur resp Etalon / Calibrador o bien Estándar
	Stop solution / Solution d'arrêt / Solución de parada
	TMB Substrate solution / Solution de TMB / Solución substrato TMB
	Washing solution 50x concentrated/ Solution de lavage concentré 50 x / solución de lavado concentrado x50
	Contains sufficient for "n" tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente para "n" tests

SCHEME OF THE ASSAY

beta-HCG

Test Preparation

Prepare reagents and samples as described.
Establish the distribution and identification plan for all specimens and controls.
Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Assay Procedure

	Substrate blank	Standard 0 - 5	Control	Sample
Standard 0 - 5	-	25 µl	-	-
Control	-	-	25 µl	-
Sample	-	-	-	25 µl
Diluted Conjugate	-	100 µl	100 µl	100 µl
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 1 hour at room temperature (22...28°C) Wash each well three times with 300 µl diluted Wash Solution In case you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.				
TMB Substrate	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Incubate for exactly 15 min at room temperature in the dark				
Stop Solution	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Shake the microplate gently Photometric measurement at 450 nm				



Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 6074 23698-0

Fax: +49 6074 23698-900

E-Mail: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com

Website: clinical.goldstandarddiagnostics.com

DNOV034-bHCG_IFU_rev01_fromLot_6183AN