

TRABAJOS ORIGINALES

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Sancti Spíritus

VALIDACIÓN CLÍNICA DEL INMUNOENSAYO RÁPIDO BioLine-hCG PARA EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DEL EMBARAZO BioLine-hCG

Lic. Edel Torres Gómez, Ing. Milvia Muñoz Valdivia, Téc. María Delia Rocha Ramos, Dr. Jorge Luis López Cabello, Dra. Milagros Romero Fernández, Dra. Ana Lidia Medina Betancourt y Dra. Agueda Clara García Lara

RESUMEN

Se realizó la validación clínica del inmunoensayo rápido y simple BioLine-hCG para el diagnóstico precoz del embarazo, en el Hospital Ginecoobstétrico de la Provincia de Sancti Spíritus. Se analizaron 397 muestras de orina, 150 de las cuales correspondían a pacientes que asistían a la Consulta de Regulación Menstrual. Se compararon los resultados obtenidos con el diagnóstico cromatográfico de referencia ABBOTT TestPack +Plus, el examen físico inferido por el ginecólogo y el análisis histopatológico efectuado por el laboratorio de patología del propio hospital. Se comprobó en el sistema BioLINE-hCG, el 99,07 % de sensibilidad y 100 % de especificidad para el 99,33 % de exactitud con respecto al diagnóstico de referencia. De poseer un diagnóstico rápido y sencillo como el validado en este trabajo, la interesada puede conocer el resultado y evitar todos los riesgos que acarrear los procesos de interrupción del embarazo en la mujer.

Descriptores DeCS: TESTS INMUNOLOGICOS DEL EMBARAZO/métodos; GONADOTROPINAS CORIONICAS/orina.

La detección de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) en muestras de suero y en orina es actualmente un método bien establecido para la confirmación bioquímica del embarazo. La hCG, es una glicoproteína de aproximadamente 39,5 kD de peso molecular, que comienza a ser secretada por las células del sincitiotrofoblasto a los 7 d de haber ocurrido la concepción, desplegando su principal función sobre el cuerpo amarillo para incrementar la secreción de las hormonas ováricas; estrógeno y progesterona. Su concentración se incrementa de forma

exponencial con los días de gestación, alcanza su mayor pico durante el primer trimestre por lo que se convierte en un excelente marcador del diagnóstico precoz del embarazo.^{1,2}

En la actualidad se han desarrollado diferentes tipos de inmunoensayos para este diagnóstico, con sensibilidades que oscilan entre 10 y 50 UI/L de hCG, tanto en muestras de suero como en orina, que se registran generalmente un día antes de pérdida de la menstruación. Dentro de estos sistemas diagnósticos se encuentran desde los más sensibles como el radioin-

munoensayo (RIA), hasta el uso de técnicas rápidas, sencillas y fáciles de realizar como son las obtenidas con las tecnologías de la aglutinación³ y el Dipstick cromatográfico.⁴ Este último se basa en una migración capilar de los reactantes realizada sobre membrana de nitrocelulosa como soporte sólido, en la que se encuentran dispuestos los anticuerpos específicos anti-hCG. De estar presente la hormona específica en la muestra de orina que se analiza, el sistema nos revela finalmente la reacción con un color determinado, apreciable a simple vista en forma de línea en el lugar donde se depositó el anticuerpo de captura.

En este trabajo presentamos los resultados alcanzados en la validación clínica del ensayo BioLine-hCG realizada por el Hospital Ginecoobstétrico de la provincia de Sancti Spiritus (HGOPSS), el cual se basa en la tecnología del dipstick cromatográfico reseñado anteriormente, con evidencias de sensibilidad y especificidad similares a los reportados por los sistemas existentes en el mercado internacional.

MÉTODOS

El estudio para la validación del ensayo BioLINE-hCG lo realizamos entre los meses de agosto y septiembre de 1995, abarcó 397 muestras de orina de pacientes que asistían a las consultas de regulación menstrual (RM) e interrupción del HGOPSS y la consulta de Genética Médica de la Facultad de Ciencias Médicas de la propia provincia (FCMSS).

Examinamos los resultados de 150 muestras de orina de pacientes que asistieron a la consulta de RM con el ensayo BioLINE-hCG y los comparamos con el diagnóstico comercial ABBOTT-TestPack + Plus hCG (ABBOTT Laboratories, IL.

60064, USA) utilizado como diagnóstico cromatográfico de referencia (registrado y aprobado por la FDA; USA, 1990); también registramos la valoración inferida por el ginecólogo de acuerdo con el interrogatorio, el examen físico de la paciente y los resultados histológicos de las biopsias del contenido aspirado en cada regulación. Estas últimas fueron recogidas con el equipamiento de la propia operación de regulación menstrual (Cánulas de Karman) y colocadas en frascos limpios de 5 mL de volumen, rotuladas según el orden de registro de cada paciente y enviadas al Laboratorio de Anatomía Patológica del propio hospital.

Analizamos además, 127 muestras de orina de pacientes de las consultas de interrupción (78) del HGOPSS y de Genética de la FCMSS (49) como muestras positivas y 120 muestras de orina procedentes de estudiantes y trabajadoras de la FCMSS que no presentaban síntomas de embarazo (muestras negativas).

Para ejecutar el ensayo BioLINE-hCG colocamos la tira reactiva en la muestra de orina y visualizamos el resultado transcurridos los 5 min necesarios o menos. Este era apreciable en forma de 2 líneas rosadas de ser positivo o 1 sola línea (correspondiente al control del ensayo) de ser negativo (fig. 1). Así mismo para ejecutar el ensayo ABBOTT-TestPack + Plus hCG, solamente dispensamos 5 gotas de orina en el pocillo, correspondiente a la muestra y esperamos el mismo tiempo que para el ensayo BioLINE-hCG, al final del cual se apreciaba el resultado en la ventana de los resultados en forma de un signo (+) de ser positivo, o(-) de ser negativo.

El ensayo clínico era formulado por el ginecólogo, de acuerdo con el interrogatorio clínico y su experiencia práctica en el examen físico (tamaño del útero y estado del cérvix).⁵

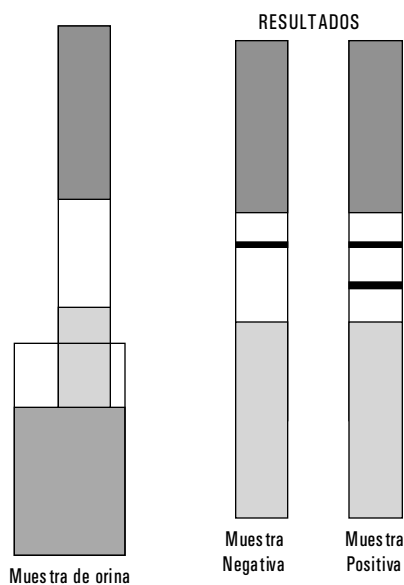


FIG. 1. Inmunoensayo rápido y simple Bio Line-hCG.

El material de biopsia lo colectamos mediante la aspiración al vacío de un aspirador eléctrico modelo VACUUM, llevándola hasta 600 mm Hg de mercurio entre 2 y 6 min (según el caso tratado en el procedimiento de regulación menstrual) y lo analizamos por el método convencional de inclusión de la muestra en parafina, teñidas posteriormente con hematoxilina y eosina.⁶ Todas las muestras montadas en láminas las diagnosticamos histológicamente con microscopios de luz y posteriormente, las clasificamos según los protocolos técnicos descritos.⁶

RESULTADOS

En la tabla 1 encontramos los resultados del diagnosticador de referencia; de 150 muestras analizadas, detectó 108 resultados positivos de embarazo y 42 negativas. De manera similar, el inmunoensayo BioLINE hCG detectó una muestra positiva menos

(falso negativo), para el 99,07 % de sensibilidad de este sistema.

En las muestras analizadas de las pacientes que asistían a la Consulta de Interrupción y Genética, las cuales presentaban un desarrollo gestacional más avanzado, todas alcanzaron resultados positivos con el ensayo BioLINE-hCG. Así mismo todas las muestras de orina analizadas en la FCMSS a la población abierta que allí estudia o trabaja, aportaron los resultados negativos esperados para el 100 % de especificidad del ensayo.

La valoración clínica tuvo un 87,9 % de sensibilidad de este método diagnóstico, con lo cual se señala que el diagnosticador clínico es muy subjetivo ya que depende fundamentalmente de la experiencia del ginecólogo, máxime si las pacientes asisten con un proceso gestionario muy temprano que dificulta aún más precisar el diagnóstico final.^{5,7,8} Del mismo modo, el porcentaje más bajo de muestras positivas diagnosticadas fue registrado por el método del análisis histopatológico de las biopsias (tabla 2), lo cual, independientemente de las 11 muestras que no fueron viables, se reporta que ocurre por el propio acto de la regulación menstrual,⁹ ya que el óvulo fecundado se implanta en el endometrio alrededor del séptimo día de la fecundación y en estos casos la aspiración realizada recoge fundamentalmente parte del endometrio listo para recibir el embarazo, o el saco gestacional puede ser tan pequeño que no sea extraído conjuntamente con el material de estudio, por lo que se escapan muchas muestras positivas^{5,9} (fig. 2). Se puede apreciar también como 11 muestras de biopsias recogidas (7,3 %) no fueron útiles para su análisis histopatológico, lo cual se corresponde con lo descrito por diferentes autores cuando se realiza la regulación en la primera consulta a todas las pacientes sin mediar prueba de embarazo.

TABLA 1. *Exactitud del método diagnóstico BioLINE-hCG respecto al juego diagnóstico comercial ABBOTT*

Inmunoensayo	Muestras positivas	Muestras negativas	Sensibilidad %	Especificidad %	Exactitud %
ABBOTT	108	42	100	100	100
BioLine-hCG	107	43	99,07	100	99,33

Sensibilidad = positivos x 100 % / (positivos + falsos negativos).

Especificidad = negativos x 100 % / (negativos + falsos positivos).

Exactitud = (positivos + negativos x 100 % / número total de muestras).

TABLA 2. *Resultados de cada diagnosticador en la consulta de Regulación Menstrual*

Método diagnóstico	Muestras positivas	Muestras negativas	No útiles por escasez de muestra
ABBOTT	108	42	
BioLine-hCG	107	43	
Examen Clínico	95	55	
Histología	89	50	11

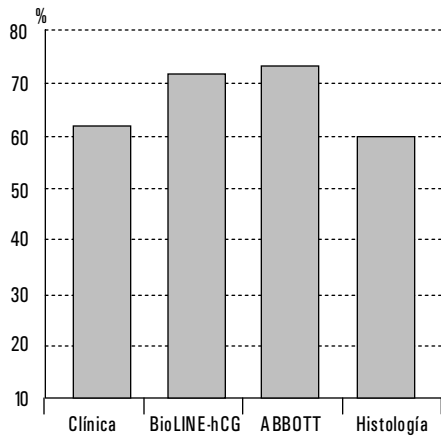


FIG. 2. *Relación porcentual de muestras positivas de embarazo detectadas por diferentes diagnosticadores.*

DISCUSIÓN

La literatura reporta que entre el 27,7 y el 33 % de las pacientes que acuden a la consulta de RM no están embarazadas,

según se ha podido demostrar posteriormente.^{5,7} Es por ello que se realizó este estudio en dicha consulta, teniendo en cuenta asimismo el nivel de sensibilidad descrito para el ensayo BioLINE-hCG de 50 UI/L de hCG en muestras de orina,¹⁰ valor que se corresponde con el día antes de la pérdida del período menstrual en la mujer.¹¹

Con los resultados obtenidos, demostramos la efectividad del inmunoensayo BioLINE-hCG para el diagnóstico precoz del embarazo, con el cual se puede prevenir el proceso de regulación menstrual, ya que de ser negativo el resultado, puede ser interpretado por la propia interesada de una forma rápida y sencilla y con ello evitar los riesgos que el evento puede acarrear como:

1. En la mayoría de los casos el embrión es tan pequeño que probablemente no se evacue en el primer raspado; se ha observado que el embarazo continúa en un porcentaje que varía del 1 al 5 % de las pacientes atendidas.^{5,7-9}
2. La infección es un riesgo en todas las operaciones obstétricas.
3. Posibles traumas en el útero o en el cérvix.¹²
4. Si la aspiración es incompleta, el sangrado puede continuar.¹³
5. Desde el punto de vista económico, el promedio de gastos por paciente es de

8,90 pesos y en los casos de legrados uterinos, el gasto es de 17,66 pesos.⁵

El objetivo final alcanzado con este estudio, es disponer de este diagnosticador

rápido y sencillo del embarazo precoz, a nivel de farmacias, consultas del médico de la familia, u otro nivel de atención primaria de salud, máxime cuando ya se dispone del registro para su producción y comercialización.

SUMMARY

The clinical validation of the rapid and easy immunoassay for the early diagnosis of BioLine-hGC pregnancy was made at the Provincial Gynecobstetrical Hospital of Sancti Spiritus. 397 urine samples were analyzed. 150 of them were from patients attending the Menstrual Regulation Department. The results obtained were compared with the ABBOT Test Pack +Plus chromatographic reference diagnosis, with the physical examination finished by the gynecologist, and with the histopathological analysis made by the pathology laboratory of the hospital. 99.07 % of sensitivity, 100 % of specificity and 99.3 % of accuracy were attained in the BioLINE-hCG system compared with the reference diagnosis. This fast and simple diagnosis allows the pregnant woman to know the result and to avoid the risks derived from an abortion.

Subject headings: PREGNANCY TESTS, IMMUNOLOGIC/methods; GONADOTROPINS, CHORIONIC/urine.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Braunstein G, Rasor J, Adler D, Danzer H, Wade M. Serum human chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1976;126:678-81.
2. Hussa R. Human chorionic gonadotropin, a clinical marker: review of its biosynthesis. *Ligand Rev* 1981;3(Suppl 2):6-43.
3. Nurit R, Imbar M, Hexter C. Monoclonal antibody specific to the beta subunit of human chorionic gonadotropin (hCG) and capable of agglutinating hCG-coated red blood cells. *Hybridoma* 1984;3:49-55.
4. Davis P, Prior M, May K. Solid phase analytical device. International application published under the patent cooperation treaty (PCT). World Intellectual Property Organization. 1990;WO 90/09592.
5. Nieto A, Pérez E. Método de regulación menstrual. Análisis de un año. Tesis de Grado. 1988. Facultad de Ciencias Médicas de Sancti Spiritus.
6. Libro de Texto de Citohistopatología. 1982; t2:
7. Austin J. Diagnóstico de la patología endometrial, mediante legrado por aspiración. *Actas Ginecol* 1982;39:3.
8. Botella Llusía J, Clavero Núñez J. *Ginecología* 13 ed. Barcelona:1984;2-3.
9. Harvey K, Potts M. Early ambulatory termination of pregnancy techniques and results. 1974. Paris.
10. Registro de Diagnosticadores. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos. Ministerio de Salud Pública. 1996;No.D9708-11.
11. Daylily S, Sherry L, Paul Claman, Henry F. Serum human chorionic gonadotrophin levels in early pregnancy. *Clin Chem Act* 1989;181:282-92.
12. Dawn C. Menstrual regulation; a new procedure for fertility control. Dawn Books, 1985:
13. Miller E, Fortney J. Early vacuum aspiration. Minimizing procedures to non pregnant women. *Fam Plann Perspect* 1976;8:33-8.

Recibido: 31 de marzo de 1998. Aprobado: 18 de junio de 1998.

Lic. Edel Torres Gómez. Guairo No. 13 entre Plácido y San Miguel, Sancti Spíritus, Cuba.