

USO ADECUADO DEL ENSAYO DE GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA EN EL DIAGNÓSTICO DE EMBARAZO. ¿SANGRE U ORINA?

Dras. Graciela Briozzo*, María del Carmen Perego** y María del Carmen Moirón***

Resumen

Introducción: Los niveles de Gonadotropina Coriónica humana (hCG) pueden detectarse en suero o en orina con métodos de distinta sensibilidad y permiten no solamente el diagnóstico del embarazo, sino también su seguimiento, la posibilidad de detección de embarazos ectópicos y las amenazas de aborto.

Objetivos: 1) Demostrar la concordancia entre las pruebas para diagnóstico precoz de embarazo en muestras simultáneas de sangre y orina a niveles iguales o superiores a 25 mUI/ml. 2) Estimar el grado de sobreutilización del ensayo inmunoenzimático en sangre y su repercusión sobre los costos.

Material y métodos: Sesenta muestras consecutivas de suero y sus correspondientes de orina recolectadas el mismo día de la extracción de sangre.

La determinación cuantitativa de hCG b total en sangre se efectuó por el método ELISA (MEIA) (Abbott. AXSYM System). En orina se utilizó un inmunoensayo cromatográfico cualitativo en un solo paso (Acon).

Resultados:

Número pacientes	hCG sérica de (mU/ml)	hCG en orina
10	No detectable	negativo
2	2-24	negativo
48	25 o mayor	positivo

Comparación de resultados entre las muestra de sangre y orina a tiempo cero y a las 48 horas:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1 a las 48 h	Muestra 2 a las 48 h
hCG en sangre mUI/ml	20	12	400	320
HCG en orina (mU/ml)	negativo	negativo	positivo	positivo

* Bioquímica. Jefe de Sección Bioquímica Clínica.

** Bioquímica. Jefe de División Laboratorio.

*** Bioquímica. Sección Bioquímica Clínica.

Hospital Materno-Infantil "Ramón Sardá". Laboratorio Central.
E-mail: mastergrace@dr.com

Conclusiones: Para el diagnóstico precoz del embarazo es recomendable efectuar en primer término el inmunoensayo cromatográfico cualitativo en orina previo a la indicación de la prueba en sangre, la cual se solicitará de acuerdo al criterio médico.

Palabras clave: Gonadotropina Coriónica, embarazo, inmunoensayo, laboratorio clínico, costos.

Introducción

La determinación de la Gonadotropina Coriónica humana (hCG) tiene aplicaciones clínicas importantes, como la confirmación de un diagnóstico clínico de embarazo durante el primer trimestre, identificación de mujeres gestantes antes de prescribir un medicamento o un examen radiográfico o cuando va a ser implantado un dispositivo intrauterino.

La hCG es una hormona glicoproteica, de peso molecular (PM) aproximadamente 39,5 kD, sintetizada por la placenta (en un principio su secreción se origina en las células del trofoblasto), muy poco tiempo después de producida la implantación del embrión.

La molécula está compuesta de 2 subunidades alfa y β , diferentes entre sí; mientras la subunidad alfa es compartida por las restantes glicoproteínas hipofisarias, la subunidad β le confiere sus características biológicas e inmunológicas distintivas.¹

La detección de la Hormona Gonadotropina Coriónica humana (hCG) en muestras de suero y orina es actualmente el método de elección para el diagnóstico y confirmación bioquímica del embarazo.²

La hCG entra en circulación materna casi inmediatamente después de la implantación del blastocisto cerca del día 21 de la última menstruación. En este momento su concentración en suero es menor o igual a 5 mUI/ml y aún no puede ser detectada por los tests de embarazo. A partir de aquí la concentración de hCG crece exponencialmente, duplicando

su valor aproximadamente cada 2 días y en el día 28 del ciclo la concentración en suero, plasma u orina promedio alcanza 100 mUI/ml con una gran variabilidad (5 a 450 mUI/ml). Cerca de la 10ª semana de la gestación los valores están alrededor de 60.000 mUI/ml (amplitud 5.000 a 150.000 mUI/ml).³ Otros autores estiman la concentración a las 10-12 semanas entre 50- 200.000 mUI/ml,⁴ por lo cual constituye un excelente marcador para la detección temprana del embarazo.

Entre las 10 y 20 semanas de la gestación, la concentración de hCG disminuye, alcanzando en promedio las 12.000 mUI/ml (r amplitud 2.000 a 50.000 mUI/ml) con pequeñas variaciones hasta el término.³

El uso de los anticuerpos (Ac) monoclonales específicos dirigidos contra la sub-unidad Beta de la hCG (hCG-β) es un prerrequisito para los tests de embarazo con un alto nivel de sensibilidad.⁵

El uso de Ac monoclonales reduce la probabilidad de resultados falso positivos y presenta la ventaja adicional de la reproducibilidad de los datos en comparación a lo observado cuando se usan Ac policlonales.

Los niveles de hCG pueden detectarse en suero o en orina con métodos de distinta sensibilidad y permiten no solamente el diagnóstico del embarazo, sino también su seguimiento, la posibilidad de detección de embarazos ectópicos⁶ y las amenazas de aborto.⁷ Existe también una utilidad adicional ya que ciertos tumores de células germinales (tanto de testículo como de ovario) producen hCG, con lo que a través de su cuantificación se puede seguir la evolución de la patología.⁸

Las consecuencias potencialmente graves, tanto emocionales, médicas y legales que derivan de un diagnóstico incorrecto de embarazo constituyen un problema en la práctica médica diaria.

Para la confirmación del embarazo el médico debe apoyarse no sólo en la clínica y en un ensayo bioquímico cuyos resultados sean sencillos de interpretar y le permitan distinguir la presencia o no de embarazo.

Para que un ensayo de hCG pueda ser usado como herramienta diagnóstica debe cumplir con las siguientes condiciones:⁹

- *Específico*: capaz de dosar hCG y/o hCG-β, obviando la interferencia de las Hormonas Luteinizante (LH) y/o Foliculoestimulante (FSH) o sus compuestos relacionados.
- *Sensible*: capaz de detectar pequeñas concentraciones de hCG tanto en muestras de sangre como de orina.

- *Preciso*: de alta reproducibilidad.
- *Fácil* de desarrollar, *rápido* y lo más *económico* posible.

Una vez cumplidos estos requisitos, el tipo de ensayo, el uso de Ac mono o policlonales en los distintos pasos de las técnicas y otros detalles metodológicos son de importancia secundaria porque los resultados obtenidos y su significado clínico son similares en esencia.

A medida que surgen nuevas técnicas y procedimientos la *precisión* de los métodos va en aumento. Es así como años atrás las pruebas realizadas en orina no presentaban buena sensibilidad dado que el nivel mínimo que determinaban era de 600 mUI/ml, en contraste con la facilidad con que otras técnicas actuales, como la de inmunoanálisis enzimático (ELISA), detectan concentraciones urinarias entre 20 y 50 mUI/ml, lo cual corresponde en embarazos normales a la concentración de hCG (tanto en suero como en orina) 7 a 10 días después de la concepción.

Esta puede ser una de las razones por la que se ha creado la idea errónea de la no confiabilidad de las pruebas tempranas de embarazo en orina.

Las nuevas estandarizaciones permiten tener resultados confiables tanto en muestras de orina como de sangre.

De igual forma, las diferentes reacciones cruzadas o interferencias con otras hormonas se han ido minimizando, para conseguir resultados más específicos en la determinación de hCG.

Objetivos

- 1) Demostrar la concordancia entre las pruebas para diagnóstico precoz de embarazo efectuadas en muestras simultáneas de sangre y orina a niveles iguales o superiores a 25 mUI/ml de hCG.
- 2) Estimar el grado de sobreutilización del enzoinmunoensayo (EIA) en sangre y su repercusión sobre los costos.

Población

- 1) Sesenta muestras consecutivas de suero (sangre obtenida por punción venosa) en el Laboratorio Central de la Maternidad Sardá durante los meses de agosto y septiembre de 2006 y,
- 2) Sesenta muestras de orina correspondientes a las mismas pacientes, recolectadas el mismo día de la extracción de sangre.

Criterios de inclusión: pacientes que concurren al Consultorio Externo de Obstetricia para el diagnóstico de embarazo, de edades gestacionales entre 3 y 12 semanas, a las cuales el médico les

había requerido la determinación de hCG en sangre. Pacientes provenientes del Consultorio de Planificación Familiar, dado que a las mismas se les solicita obligatoriamente una reacción de embarazo en sangre previa a la colocación del dispositivo intrauterino.

En el momento de la extracción sanguínea se les solicitó a todas las pacientes la recolección de una muestra de orina a fin de ser procesada en paralelo con la muestra de sangre. Los tiempos de retención urinaria fueron, en todos los casos, superiores a las 3 horas.

Criterios de exclusión: Muestras de sangre lipémicas, hemolizadas o ictericas. Muestras de orina con presencia de sangre o precipitados visibles.

Material y métodos

Diseño: Observacional, prospectivo y longitudinal. Muestreo no probabilístico.

Las muestras fueron analizadas simultáneamente, siempre dentro de las 3 horas de su extracción o recolección y los volúmenes de suero y orina obtenidos fueron en todos los casos suficientes para la ejecución de los dos ensayos analíticos. Los operadores desconocían el estado clínico de las pacientes.

La prueba de embarazo en sangre se efectuó por el **método ELISA de micropartículas (MEIA) para la determinación cuantitativa de hCG fracción b total en suero humano (Abbott. AXSYM System).**¹⁰ Las micropartículas están recubiertas de Ac. monoclonal anti- β hCG para capturar las fracciones β de la muestra y un conjugado de Ac policlonal anti- β hCG. Este método es específico para la medición de: hCGi (molécula intacta), hCGn (clivada o "nicked") y b- hCGl (libre).

Este ensayo detecta tanto la sub-unidad b libre como el dímero hCG, utilizando Ac dirigidos contra un epítipo o epítopes en la sub-unidad b que no

están enmascarados por unión a la sub-unidad alfa.

El ensayo está calibrado contra el Tercer Estándar Internacional de Referencia 75/ 537 de la OMS (3rd. IS), que contiene hCG preparada con suero humano.

La sensibilidad del método es 2 mUI/ml, y el rango de trabajo es de 2- 1000 mUI/ml. Las muestras con resultados superiores a 1000 mUI/ml se vuelven a analizar con el protocolo de dilución automática. El *coeficiente de variación* (CV %) oscila entre 5.4% y 6.8%, según el nivel de hCG.¹¹

Para la prueba de embarazo en orina se utilizó un **inmunoensayo cualitativo en un solo paso (Acon. ANMAT N° 006194)**,¹⁰ del tipo "doble sándwich" para la determinación de hCG humana. Es un inmunoensayo cromatográfico en un solo paso que utiliza una combinación de anticuerpos mono y policlonales para identificar selectivamente hCG con un alto grado de sensibilidad. Detecta concentraciones de hCG en orina iguales o superiores a 25 mU/ml de acuerdo Tercer Estándar Internacional de Referencia 75/ 537 de la OMS (3rd. IS).

La especificidad inmunológica de la tira reactiva elimina virtualmente las reacciones cruzadas con otros tipos de hormonas proteicas, tales como FSH, LH y TSH a niveles fisiológicos.

Resultados

La *Tabla 1* ilustra los valores de hCG correspondientes al primer trimestre del embarazo.¹⁰

La *Tabla 2* muestra los resultados obtenidos analizando simultáneamente las dos muestras de cada paciente.

En los dos casos en los que se detectaron niveles de hCG en suero entre 2 y 24 mUI/ml, se les solicitó a las pacientes la repetición de las dos pruebas a las 48 horas de efectuada la primera muestra.

La *Tabla 3* muestra los datos obtenidos ensayando los dos pares de muestras al tiempo de la primera toma (tiempo cero) y a las 48 horas.

Tabla 1. Niveles de hCG sérica en embarazadas normales durante el primer trimestre.

Edad Gestacional (semanas)	hCG (mUI/ml)
3-4	9-130
4-5	75-2.600
5-6	850-20.800
7-12	4.000-100.200
13-16	18.300-137.000

Tabla 2. Pruebas de embarazo en las muestras de sangre y orina (H.M.I.R.Sardá, 2006, n= 60)

Número de pacientes	hCG sérica (mU/ml)	hCG en orina
10	No detectable	negativo
2	2-24	negativo
48	25 o mayor	positivo

Discusión

Respecto de la utilidad y oportunidad de los análisis clínicos, el médico en su afán de aportar el mejor y máximo cuidado a un paciente puede, sin querer, interferir en el uso apropiado de los recursos.

Es por esta razón que cada laboratorio debe ser capaz de justificar que los procedimientos empleados son los adecuados y están normatizados apropiadamente para las condiciones de trabajo.

El punto de corte o "cutoff" para informar el resultado de un test de embarazo como "positivo" es problemático y los criterios a tener en cuenta están aún en discusión.¹²

Sobre la base de estudios publicados^{13,14-17} y protocolos comúnmente en uso, se recomiendan los siguientes puntos de corte (nivel de decisión o *cutoff*):

1. Un resultado de un test de embarazo es considerado "**negativo**" cuando la concentración de hCG es menor o igual a 5 mUI/ml. Un resultado negativo puede utilizarse para descartar embarazo con certeza igual o mayor a 99,9%.
2. Un resultado de un test de embarazo es considerado "**positivo**" cuando la concentración de hCG es mayor o igual a 25 mUI/ml. Dado que los niveles exceden esta cifra tempranamente en la gestación, niveles más bajos están raramente asociados con un embarazo viable. Los resultados falso-positivos son también raros, excepto que un resultado positivo puede encontrarse luego de un aborto espontáneo.
3. Un resultado de un test de embarazo puede considerarse "borderline" si la concentración de hCG está en el rango de 5-25 mUI/ml. La mayoría de las pacientes con resultados "borderline" a días de la implantación sufren luego abortos espontáneos tempranos o portan embarazos ectópicos.

Tabla 3. Comparación de resultados entre las muestra de sangre y orina a tiempo cero y a las 48 horas. (H.M.I.R. Sardá, 2006)

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1 a las 48 h	Muestra 2 a las 48 h
hCG en sangre mUI/ml	20	12	400	320
HCG en orina	negativo	negativo	positivo	positivo

Las recomendaciones del fabricante del equipo de reactivos acerca de la interpretación cualitativa del ensayo son coincidentes con las enunciadas en el párrafo anterior, dado que explican que las muestras con concentraciones de β -hCG total iguales o inferiores a 5 mUI/ml se visualizan en la pantalla de interpretación del instrumento como "negativas". Las muestras con valores de beta-hCG total iguales o superiores a 25 mUI/ml se comunican en pantalla como "positivas". Las muestras con valores superiores a 5 mUI/ml e inferiores a 25 mUI/ml sólo se comunican con las concentraciones, sin ninguna interpretación.¹⁰

- Los resultados obtenidos efectuando los ensayos sobre las muestras correspondientes indican:
- a) No se diagnosticó embarazo en las 10 muestras que resultaron negativas para los dos métodos.
 - b) Que los resultados considerados "borderline" para la prueba en sangre, dieron resultado negativo en orina.
 - c) Que los resultados en sangre considerados "positivos", corresponden a resultados positivos en orina.

El hallazgo de un alto número de resultados positivos en las primeras muestras (48/60) obedece casi seguramente a que nuestra población de pacientes, en general, concurre a la primera consulta luego de por lo menos una semana de su atraso menstrual, tiempo en el cual el nivel de hCG es suficientemente elevado como para que pueda detectarse la hormona en una muestra de orina.

Como puede verse por los resultados, en ninguno de 48 casos hubiese sido necesaria la detección de hCG en sangre como primera prueba y el diagnóstico temprano se hubiese logrado con la reacción de embarazo en una sola muestra de orina.

De lo expuesto se desprende que en esta serie de 60 muestras analizadas, 48 embarazos pudieron haberse diagnosticado solicitando directamente una prueba en orina, lo cual indica una sobreutilización del 80% (48/60) de la prueba en sangre.

Interrogadas las 2 pacientes a las que se les solicitó la repetición de las dos pruebas a las 48 horas de efectuada la primera muestra, se pudo determinar que al tiempo de la toma de las primeras muestras de sangre y orina, sus atrasos menstruales se hallaban dentro de la semana posterior a la fecha esperada.

En el caso de las dos pruebas negativas en orina a tiempo cero y que eran "borderline" en sangre, hubiese bastado con la repetición del ensayo en orina a las 48 horas para obtener el diagnóstico correcto.

Un aspecto muy importante es recordar que las pruebas en orina requieren una retención urinaria de por lo menos 3 horas antes de efectuar la prueba a fin de eliminar los resultados negativos motivados por la falta de concentración de la muestra. Asimismo, la presencia de sangre interfiere en la prueba en orina, por lo cual recomendamos en caso de pérdida moderada, tomar los recaudos necesarios antes de recoger la muestra.

Otro punto a señalar es que **una prueba positiva en orina efectuada en las condiciones apropiadas no necesita confirmación alguna mediante la prueba en sangre**, siendo suficiente la primera para establecer el diagnóstico.

Respecto del momento para la indicación del análisis, los autores recomiendan la solicitud del test de embarazo no antes del día 31 del ciclo (más de 3 días de falta menstrual) para afirmar que existe un embarazo clínico ante un resultado positivo³ y tal como se expresó anteriormente, las pacientes de nuestra población efectúan la primera consulta posteriormente a esos plazos.

En nuestro laboratorio hemos estudiado la relación de costos de reactivos entre las pruebas para hCG en sangre y en orina resultando aproximadamente una relación 10/1 respectivamente, lo cual da idea de la importancia de la elección por parte del médico de una u otra prueba en relación al gasto que genera.

Conclusiones

Se ha identificado un proceso que disminuye la complejidad y tiempos operativos, el plazo de entrega del resultado y la disminución de los costos.

Para el diagnóstico precoz del embarazo es recomendable efectuar en primer término el inmuensayo cromatográfico cualitativo en orina previo a la indicación de la prueba en sangre, la cual se solicitará de acuerdo al criterio médico.

Bibliografía

1. Pritchard JA y col. Tratado de obstetricia. 3ª ed. Madrid: Salvat, 1991.
2. Chard T. Pregnancy test: a review. Hum Reprod 1992; 7:701-10.
3. Bohler H, Cole LA. Human chorionic gonadotropin and related molecules in pregnancy serum and urine. Assisted Reprod Rev 1993; 3:48-48.
4. Lenton E, Neal L, Sulaiman R. Plasma concentrations of Human Corionic Gonadotrophin from the time of implantation until the second week of pregnancy. Fertil Steril 1982; 37:773-778.

5. Perego M, Briozzo G. Enzimoinmunotest para la determinación de Gonadotrofina Coriónica Humana (hCG): Revisión bibliográfica. Rev Hosp Mat Inf Ramón Sardá 1994; 1(XIII):12-16.
6. Kadar N, De Cheney A, Romero R. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis of the relative efficacy of single and serial chorionic gonadotrophin determinations in the early diagnosis of ectopic pregnancy. Fertil Steril 1982; 37:542-547.
7. Chartier M et al. Measurement of human plasma chorionic gonadotrophin (hCG) and beta hCG activities in the late luteal phase; evidence of the occurrence of spontaneous menstrual abortion in infertile women. Fertil Steril 1979; 31:134-137.
8. Blackman et al. Human Placental and Pituitary Glycoprotein Hormones and their sub-units as Tumour Markers: a quantitative assessment. JNCI 1980; 65:81-93.
9. Kosasa T. Measurement of human corionic gonadotropin. Major Probl Obst Gynec 1982; 13:64-97.
10. AxSYM system. β -hCG total. Abbott Diagnósticos. Abbott Park, IL (EEUU).
11. Batzer FR. Hormonal evaluation of early pregnancy, Fertil. Steril. 1980; 34(1): 1-13.
12. National Comitee for Clinical Laboratory Standards. Coriogonadotropin: Nomenclature, Reference Preparations, Assay Performance and Clinical Application; Approved Guideline Document I/LA 10A.
13. Emancipator K, Kadoff EM, Burke MD. Analytical versus clinical sensitivity and specificity in pregnancy testing. Am J Obstet Gynecol 1988; 158:613-616.
14. Saavedra M, Filgueira E, Pessacq M, Schweizer J, Calcagno M, Fenili C. Formas moleculares de gonadotropina coriónica humana (hCG). Impacto en su medición. Rev Arg Endocrinología y Metabolismo (RAEM) 2004; 41(1):27-43.
15. Freiser H, Nancollas GH. Compendium of analytical nomenclature-definitive rules 1987. International Union of Pure and Applied Chemistry, Analytical Chemistry Division. Oxford, Blackwell Scientific Publications 1987; 114-117.
16. Bandi ZL, Schoen I, Waters M. An algorithm for testing and reporting serum choriogonadotropin at clinically significant decision levels with use of "pregnancy test" reagents. Clin Chem 1989; 35:545-551.
17. Saxena BB, Singh M. Current pregnancy tests and their clinical applications in diagnosis and management of pregnancy. In: Langer A, Iffy L, eds. Extrauterine Pregnancy. Littleton, MA: PSG Publishing 1986; 157-178.