

A097-101

DELFLIA[®]

Free hCGβ

Fluoroinmunoensayo a tiempo resuelto

Instrucciones de uso. Reactivos para 96 ensayos

Fabricante:
Wallac Oy,
Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlandia
www.revvity.com

PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

SÍMBOLOS



In vitro diagnostic medical device / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / *In-Vitro*-Diagnostikum / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* / Medicinteknisk produkt avsedd för *in vitro*-diagnostik / Wyrób medyczny do diagnozy *in vitro* / Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro* / *In vitro* диагностично медицинско изделие



Batch code / Code du lot / Chargenbezeichnung / Código de lote / Codice di lotto / Código do lote / Satsnummer / Kod partii / Kód šarže / Код на партидата



Packing number / Numéro d'emballage / Packnummer / Número de envase / Numero confezioni / Número de embalagem / Förpackningsnummer / Liczba opakowań / Číslo balení / Номер на опаковката



Catalog number / Référence du catalogue / Bestellnummer / Número de catálogo / Numero di catalogo / Número de catálogo / Listnummer / Numer katalogowy / Katalogové číslo / Каталоген номер



Use by / Utiliser jusqu'au / Verwendbar bis / Fecha de caducidad / Utilizzare entro / Prazo de validade / Använd före / Użyć przed / Spotřebujte do / Да се използва преди



Temperature limitation / Limites de température / Temperaturbegrenzung / Limitación de temperatura / Limiti di temperatura / Limites de temperatura / Temperaturbegränsning / Zakres temperatur / Teplotní omezení / Ограничение на температурата



Add liquid / Ajout de liquide / Flüssigkeit zugeben / Añadir líquido / Aggiungi liquido / Adicionar líquido / Tillsätt vätska / Dodać płyn / Přidat kapalinu / Да се добави течност



Store in the dark / Conserver à l'abri de la lumière / Dunkel aufbewahren / Almacenar en ambiente oscuro / Conservare al buio / Armazenar no escuro / Förvaras mörkt / Przechowywać w zaciemnionym miejscu / Skladujte na tmavém místě / Да се съхранява на тъмно



Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenido suficiente para <n> ensayos / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Räcker till "n" antal tester / Wystarczy na wykonanie <n> testów / Lze použít pro <n> testů / Съдържанието е достатъчно за <n> изпитвания



Consult instructions for use / Consulter les instructions d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten / Consulte las instrucciones de uso / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte as instruções de utilização / Läs bruksanvisningen / Sprawdź w instrukcji obsługi / Viz návod k použití / Да се спазват инструкциите за употреба



Manufacturer / Fabricant / Hersteller / Fabricante / Fabbricante / Fabricante /
Tillverkare / Wytwórca / Výrobce / Производител



This way up / Haut / Diese Seite oben / Este lado arriba / Questo lato in alto
/ Este lado para cima / Denna sida upp / Tą stroną do góry / Touto stranou
nahoru / С тази страна нагоре



Recyclable / Recyclable / Recyclebar / Reciclable / Riciclabile / Reciclável /
Återvinningsbart / Można poddawać recyklingowi / Recyklovateľný / Може
да се рециклира



GHS07 Health hazard / GHS07 Risque pour la santé / GHS07
Gesundheitsgefährdung / GHS07 - Riesgo para la salud / GHS07 Pericolo
per la salute / GHS07 Risco para a saúde / GHS07 Hälsofara / Zagrożenia
dla zdrowia GHS07 / Nebezpečí ohrožení zdraví GHS07 / GHS07 Опасност
за здравето

Warning / Avertissement / Achtung / Atención / Attenzione / Atenção /
Varning / Uwaga / Pozor / Предупреждение

DELFIA® Free hCG β kit

FINALIDAD DEL KIT

Este kit sirve para la determinación cuantitativa de la subunidad β libre de la gonadotropina coriónica humana (hCG β libre) en el suero materno.

MARCADORES BIOQUÍMICOS PARA PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME DE DOWN (TRISOMÍA 21)

En el cribado del riesgo del síndrome de Down se utilizan conjuntamente marcadores bioquímicos y un software de cálculo de riesgos, como por ejemplo LifeCycle™ for Prenatal Screening.

Este kit se ha diseñado para su utilización en una de las combinaciones descritas a continuación:

En el primer trimestre del embarazo:

hCG β libre + PAPP-A
hCG β libre + PAPP-A + TN (translucencia nuchal)

En el segundo trimestre del embarazo:

hCG β libre + hAFP
hCG β libre + hAFP + uE3

RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una glicoproteína que consta de dos subunidades, α y β , que pueden estar unidas entre sí por un enlace no covalente, formando hCG intacta, o encontrarse como subunidades libres en el suero. La hCG aparece en el suero unos 6 - 8 días después de la concepción, alcanzando su nivel máximo 50 - 80 días después del último periodo menstrual (1). La subunidad β de la gonadotropina coriónica humana contiene el código de un conjunto de siete genes de los que sólo dos se transcriben y manifiestan en la placenta. Se ha descubierto que, cuando el feto está afectado por el síndrome de Down, el nivel de la subunidad β libre de la hCG aumenta significativamente en el suero materno durante el primer y el segundo trimestre del embarazo (2,3).

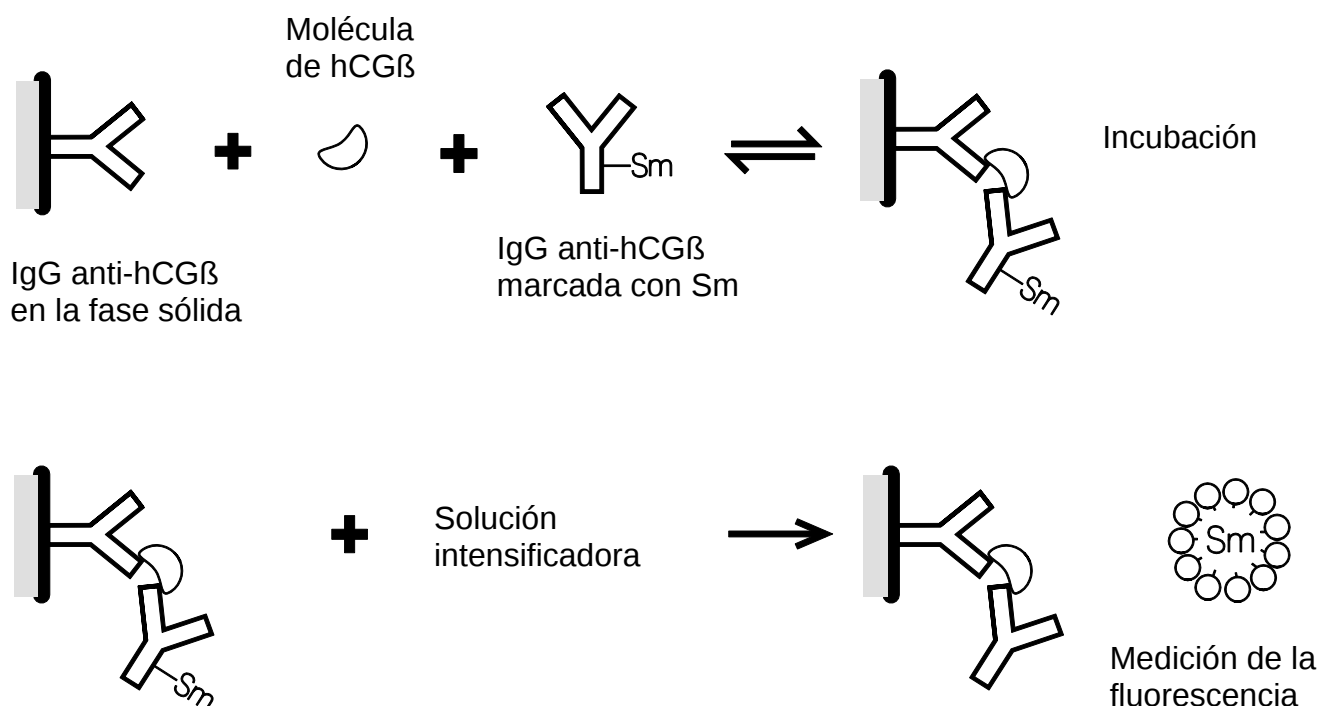
La medida de la subunidad β libre de la hCG en el suero materno, sirve como ayuda para el diagnóstico del síndrome de Down en el feto. Varios estudios han demostrado que los valores de la fracción β libre de la hCG, teniendo en cuenta la edad de la madre en combinación con valores normalizados respecto al periodo gestacional durante el segundo trimestre, junto con otros marcadores bioquímicos (hAFP y estriol no conjugado, uE3) son un método eficaz para obtener un diagnóstico prenatal del síndrome de Down (8,9).

Más recientemente, se han realizado estudios para demostrar la posibilidad de realizar esta exploración durante el primer trimestre del embarazo. Se ha observado que la hCGβ libre también presenta niveles elevados en las primeras etapas de embarazos afectados por el síndrome de Down (10). Ha sido demostrado, que el uso de la hCGβ como marcador junto con la PAPP-A (proteína A del plasma asociada al embarazo) durante el primer trimestre del embarazo, tiene una capacidad de detección similar que el ensayo con tres marcadores: hAFP, hCG (o hCGβ libre) y uE3, durante el segundo trimestre del embarazo (11).

PRINCIPIOS DEL ENSAYO

El kit DELFIA® Free hCGβ es un ensayo en fase sólida, fluoroinmunométrico de dos sitios, basado en la técnica directa del sandwich, en la que dos anticuerpos monoclonales (derivados del ratón), se dirigen contra dos determinantes antigénicos distintos de la molécula de hCGβ libre. Los estándares, controles y las muestras de suero de mujeres embarazadas que contengan hCGβ, se hacen reaccionar con los anticuerpos monoclonales inmovilizados, específicos de la hCGβ. Al mismo tiempo, se hace reaccionar la hCGβ con un anticuerpo monoclonal marcado con samario. Estos anticuerpos marcados se dirigen contra epítomos antigénicos específicos distintos de los anticuerpos inmovilizados. Sólo es necesaria una incubación.

La solución intensificadora disocia los iones de samario de los anticuerpos marcados en una solución dónde éstos forman con los componentes de dicha solución quelatos altamente fluorescentes. La fluorescencia producida en cada muestra por el samario es proporcional a la concentración en la muestra de hCGβ (4,5,6).



CONTENIDO DEL KIT

Cada kit DELFIA Free hCG β contiene reactivos para 96 ensayos.

La fecha de caducidad del kit completo viene indicada en una etiqueta exterior. Almacenar a +2 - +8°C.

Reactivos

Componente	Cantidad	Almacenamiento y caducidad
Estándares de hCG β (valores aprox.)	6 viales, liofilizados	+2 - +8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
A 0 ng/mL	Las concentraciones exactas de hCG β se indican en el certificado de control de calidad específico del lote, incluido en el kit.	
B 2 ng/mL		
C 5 ng/mL		
D 20 ng/mL		
E 100 ng/mL		
F 200 ng/mL		

Los estándares están preparados con una solución salina tamponada con Tris-HCl (pH 7.8) que contiene albúmina sérica bovina. Los estándares han sido calibrados frente a la Preparación Internacional de Referencia de la OMS (75/551) para la hCG β .

Factor de conversión: 1 ng/mL = 1 mU/mL.

NOTA: El polvo contiene azida sódica (< 1%) como conservante; este compuesto es nocivo por inhalación, por contacto con la piel y por ingestión.

Solución madre de trazador anti-hCG β -Sm (~ 50 μ g/mL) (ratón monoclonal)	1 vial, 0.75 mL	+2 - +8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
---	-----------------	---

El trazador es una solución salina tamponada con Tris-HCl (pH 7.8) que contiene albúmina sérica bovina, y < 0.1% de azida sódica como conservante.

Solución de lavado concentrada	1 frasco, 40 mL	+2 - +8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco.
--------------------------------	-----------------	---

Solución salina tamponada con Tris-HCl (pH 7.8), concentrada 25 veces, con Tween 20. Contiene Germall® II¹ como conservante.

ADVERTENCIA (el concentrado de lavado contiene Germall® II): Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

¹ Germall es una marca registrada de ISP Investments, Inc.

Solución tampón DELFIA-2	1 frasco, 30 mL	+2 - +8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco.
Solución salina lista para usar, tamponada con Tris-HCl (pH 7.8), que contiene albúmina sérica bovina, globulina bovina, IgG de ratón, Tween 20, ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), un colorante rojo inerte, y < 0.1% de azida sódica como conservante.		
Solución intensificadora	1 frasco, 50 mL	+2 - +8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Caducidad: 6 meses a temperatura ambiente (+20 - +25°C). Evitar la exposición directa a la luz solar.
Solución intensificadora lista para usar con Triton® X-100 ² , ácido acético y quelantes. La solución intensificadora contiene un 0.1 % de Triton® X-100. Véase la sección «ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES».		
Tiras para microtitulación anti-hCGβ. 8 x 12 pocillos recubiertos con anticuerpos de hCGβ (ratón monoclonal)	1 placa	+2 - +8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
Bolsa de plástico que se pueda sellar para almacenamiento de tiras para microtitulación	1 unidad	
Certificado de control de calidad específico del lote	1 unidad	

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT

El kit DELFIA Free hCGβ forma parte de un sistema completo de reactivos e instrumentos para inmunodiagnóstico. El sistema DELFIA requiere los siguientes componentes, que se pueden obtener de Wallac Oy o Revvity, Inc. y sus distribuidores.

1. Fluorímetro a tiempo resuelto con impresora y ordenador
2. Programa de gestión de datos MultiCalc (MultiCalc Advanced, nº de ref. 1224-310)
3. Lavadora automática - DELFIA Platewash (nº de ref. 1296-026)

² Triton es una marca registrada de Union Carbide Corporation.

4. Agitador automático - DELFIA Plateshake (nº de ref. 1296-003/004)
5. Pipeta para la solución intensificadora - Eppendorf Multipette (nº de ref. 1296-014) con punta Combitip de 5 mL (nº de ref. 1296-016) o alternativamente dispensador DELFIA Plate Dispense (nº de ref. 1296-041)
6. Diluyente - DELFIA Diluent II (nº de ref. B131-100 e B132-100)

Además del sistema DELFIA, son necesarios los siguientes elementos:

- pipetas de precisión para dispensar volúmenes de microlitros y pipetas para dispensar los volúmenes de mililitros
- agua desionizada
- **Nota: Para dispensar las soluciones, tanto de la muestra como del trazador, recomendamos el uso de un robot o una pipeta electrónica manual**

FASE PREANALÍTICA

FACTORES QUE PUEDEN INFLUIR EN EL ENSAYO

Sustancias que interfieren: No se puede utilizar plasma que contenga EDTA o citratos, debido a sus efectos quelantes sobre el samario. Sin embargo, sí se puede utilizar el plasma con heparina. Las muestras de suero hemolítico (≤ 5 g/L de hemoglobina), lipémico (≤ 5 g/L) o icterico (≤ 500 μ mol/L de bilirrubina) no interfieren en el ensayo.

TOMA DE LAS MUESTRAS Y ESTABILIDAD DEL ANALITO

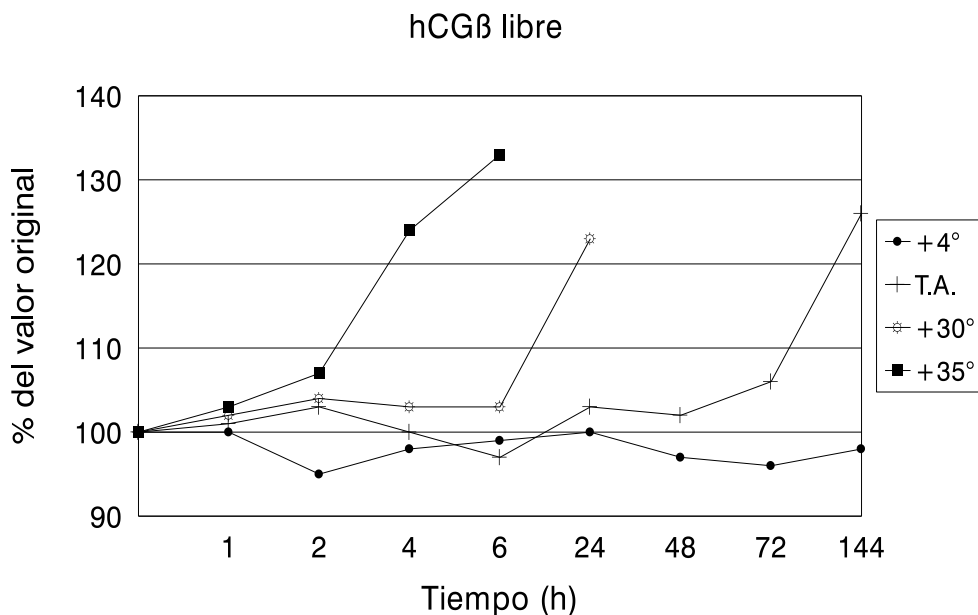
Las muestras se toman por punción venosa, se dejan coagular y se separa el suero por centrifugación lo más rápidamente posible (ver la curva de estabilidad siguiente).

Las muestras se pueden guardar 6 días a $+2$ - $+8^{\circ}\text{C}$. Para periodos más largos, guardar a -20°C . Evitar las congelaciones y descongelaciones repetidas.

Si la concentración de hCG β libre en las muestras de pacientes supera (o se espera que supere) 200 ng/mL, se deben diluir las muestras con el DELFIA Diluent II.

Es importante separar la fracción de suero de la sangre completa antes de enviarla al laboratorio (7). Además hay que evitar las temperaturas elevadas debido a la inestabilidad de la hCG (ver la figura siguiente).

Estabilidad de las muestras a distintas temperaturas³



FASE ANALÍTICA

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para diagnóstico *in vitro*.

Este kit debe ser utilizado únicamente por personal cualificado.

Tratar todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas. Consultar la publicación "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" del U.S. Department of Health and Human Services o las normativas locales o nacionales.

Los reactivos contienen azida sódica (NaN_3) como conservante. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías, formando azidas metálicas muy explosivas. Al limpiar los reactivos, dejar correr gran cantidad de agua para evitar la formación de azidas.

Los estándares de hCGβ liofilizados contienen azida sódica. El polvo es nocivo por inhalación, por contacto con la piel y por ingestión.

El concentrado de lavado contiene Germall® II, que puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Lleve prendas protectoras adecuadas, guantes y protección ocular. En caso de accidente, aclare inmediatamente con abundante agua y acuda a un médico.

Se ha añadido Triton® X-100 (4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol, etoxilado) a la lista de autorización (Anexo XIV) de la normativa sobre productos químicos de la Unión Europea (REACH) porque es un alterador del sistema endocrino. El uso de este producto está autorizado por la Comisión Europea con el número de autorización REACH/22/39/1 en

³ Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

base a la autorización de Revvity, siempre que los residuos sólidos (por ejemplo, botellas vacías, puntas de pipeta, placas) que contengan Triton® X-100 se recojan para su correspondiente incineración y los residuos líquidos para su tratamiento. El tratamiento deberá minimizar las liberaciones de 4-terc-OPnEO (producto de descomposición de Triton® X-100) al medioambiente en la medida en que sea técnicamente y prácticamente posible. No se pueden verter los residuos o la solución intensificadora que no se utiliza en el sistema de alcantarillado o en aguas superficiales sin tratamiento.

Triton® X-100 no es peligroso para los usuarios en la concentración proporcionada en la solución intensificadora.

Todos los residuos se deben eliminar siguiendo la normativa en vigor.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Hacer cada determinación por duplicado, tanto para los estándares como para las muestras. De cada ensayo se debe trazar una curva estándar. Antes de usarlos, se debe dejar que todas las muestras y reactivos alcancen la temperatura ambiente (+20 - +25°C).

1. Preparación de los reactivos

Estabilidad una vez reconstituídos

Estándares de hCGβ

2 semanas a +2 - +8°C.
Para periodos más largos,
guardar a -20°C.

Añadir exactamente 1.1 mL de agua desionizada a cada vial y mezclar suavemente. Dejar reposar durante al menos 30 minutos antes de utilizarlo.

NOTA: El polvo contiene azida sódica (< 1%) como conservante. Es nocivo por inhalación, al contacto con la piel o por ingestión. Los estándares reconstituídos contienen < 0.1% de azida sódica, y no están considerados como nocivos.

Solución de lavado

2 semanas a +2 - +25°C
en un recipiente cerrado.

Echar los 40 mL de la solución concentrada de lavado en un recipiente limpio y diluir 25 veces, añadiendo 960 mL de agua desionizada, hasta obtener una solución de lavado tamponada (pH 7.8).

Solución de trazador anti-hCGβ-Sm

Preparar como máximo una hora antes de su uso.

Preparar el volumen necesario de dilución de trazador mezclando 30 µL de la solución madre de trazador con 3 mL de la solución tampón DELFIA-2 por tira (ver cuadro del Protocolo resumido).

Es muy importante que la solución tampón DELFIA-2 no entre en contacto con la solución madre de trazador que no esté destinada a su uso inmediato.

Para preparar la solución de trazador, recomendamos el uso de un recipiente de plástico desechable.

2. Poner el número necesario de tiras de microtitulación en la placa.

Nota: Abra la lámina únicamente desde tres lados, dóblela y guárdela dejando la información específica de la placa en el embalaje. Guardar las tiras restantes con desecante en la bolsa de plástico que se pueda sellar suministrada con el kit.

3. Pipetear simultáneamente en los pocillos 200 μ L de solución trazadora (Tr.) y otros 25 μ L de los estándares (Est) o 25 μ L de las muestras de pacientes (desconocidas - Des) (ver nota de la pág. 7). El siguiente mapa de placas se muestra como ejemplo. Cada laboratorio puede decidir acerca de la mejor colocación de los controles y de las muestras.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Tira
Tr.+ Est A	Tr.+ Est A	Tr.+ Est B	Tr.+ Est B	Tr.+ Est C	Tr.+ Est C	Tr.+ Est D	Tr.+ Est D	Tr.+ Est E	Tr.+ Est E	Tr.+ Est F	Tr.+ Est F	A
Tr.+ 1 ^º Des	Tr.+ 1 ^º Des	Tr.+ 2 ^º Des	Tr.+ 2 ^º Des	Tr.+ 3 ^º Des	Tr.+ 3 ^º Des	etc.						B
												C etc.

Un método alternativo es pipetear las muestras en la primera tira, añadir el trazador y pasar a la siguiente tira.

4. Incubar las tiras durante 2.5 horas ($\pm$ 10 minutos) a temperatura ambiente con agitación **lenta** en el agitador DELFIA Plateshake. **La temperatura de incubación no debe superar los +30°C.**
5. Después de la incubación, aspirar y lavar cada tira con el DELFIA Platewash utilizando el programa 97 (wash).
6. Añadir a cada pocillo 200 μ L de la solución intensificadora directamente del frasco, con **la pipeta recomendada Eppendorf Multipette** lavando previamente la punta Combitip una vez con la solución intensificadora (y tirarla), o con el DELFIA Plate Dispense. Volver a llenar la Combitip y tirar la primera porción. Evitar tocar el borde del pocillo o su contenido.
7. Agitar la placa **lentamente** durante 5 minutos. Si se evita la evaporación, la fluorescencia es estable durante varias horas. No obstante recomendamos medirla antes de 1 hora, pues los factores externos pueden causar un deterioro de la señal con el tiempo, aunque esto sucede muy raras veces.

8. Asegurarse de que cada tira está correctamente colocada en la placa y medir la fluorescencia en el fluorímetro a tiempo resuelto.

Cuando se use el fluorímetro 1232 o 1234, seleccionar el programa del kit número 97 o protocolo del MultiCalc® ⁴ "97 HCGB" para la medición automática y cálculo de los resultados.

Cuando se use VICTOR™ ² D, empezar la medición a partir de "Start Wizard", seleccionar "HCGB" de "Protocols/Kits" del panel "Prenatal" y definir la cantidad de placas y de muestras.

Comprobar antes los parámetros del programa 97 o del protocolo del MultiCalc "97 HCGB". Si cambia el número de repeticiones para muestras desconocidas, cambie también el protocolo convenientemente (para editar los parámetros, ver el manual del fluorímetro o el manual del MultiCalc).

```

      ASSAY TYPE IS IFMA
01  DUAL ASSAY                      = NO
03  MEASURING PARAMETERS            = Sm    (type in)
20  X-AXIS (CONCENTRATION)          = LOG
21  Y-AXIS (RESPONSE)               = LOG_B
22  FITTING ALGORITHM               = SPLINE SMOOTHED
25  STANDARD CURVE                  = NEW
26  STANDARDS ON 2.. PLATES         = NEW
81  DISPLAY   = SEQ PAT CODE COUNTS CONC %CV FLAG ID CURVE
82  PRINTER   = SEQ PAT CODE COUNTS CONC %CV FLAG ID CURVE
CODING
  2 BLANK
  2 STD = B      (Comprobar si las concentraciones de los estándares de
  2 STD = C      hCGB corresponden a las indicadas en el certificado de
  2 STD = D      control de calidad específico del lote. Si no fuera así,
  2 STD = E      introducir las concentraciones nuevas.)
  2 STD = F
  2 UNKN
END

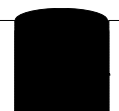
```

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. Para el buen uso del kit DELFIA es esencial leer y entender bien todas estas instrucciones. Los reactivos suministrados con este kit están pensados para utilizarlos como una sola unidad. No mezclar reactivos de dos kits con distinto número de lote, aunque sean idénticos. No usar los reactivos de un kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del mismo.
2. Cualquier desviación del procedimiento de ensayo puede afectar a los resultados.

⁴ MultiCalc es una marca registrada de Revvity, Inc.
VICTOR es una marca de fábrica de Revvity, Inc.

3. Antes de la preparación de las muestras, se debe dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (+20 - +25°C). Las muestras congeladas del paciente se deben llevar también a temperatura ambiente agitándolas a mano suave y lentamente. No agitar fuertemente ni hacer remolinos con las muestras de pacientes.
4. Al lavar las tiras, procurar llenar cada pocillo hasta el mismo borde superior, como se ve en la figura. Después de lavar las tiras, secar bien los pocillos. Si no están bien secos, poner la placa boca abajo sobre un papel secante y golpear fuerte.



Para instrucciones detalladas sobre la limpieza y el mantenimiento de la lavadora, referirse al manual DELFIA Platewash.

5. Para evitar la contaminación de samario, y, por consiguiente, la gran fluorescencia que resultaría, todo el proceso de pipeteo y lavado se debe realizar de una forma correcta. Por tanto es muy importante que se usen las pipetas suministradas con el sistema DELFIA únicamente para las funciones recomendadas.

La solución intensificadora debe dispensarse utilizando únicamente la pipeta recomendada Eppendorf Multipette después de llenar y vaciar la punta o cartucho con dicha solución siguiendo las instrucciones de uso. Dicho cartucho no podrá usarse para pipetear ningún otro reactivo. Después de usarlas, colocar las pipetas Eppendorf Multipette en el soporte, sin separar la punta.

Cuando se use el DELFIA Plate Dispense se debe consultar su manual.

FASE POSTANALÍTICA

CALCULO DE RESULTADOS

El sistema DELFIA incorpora programas para el proceso de datos, y los resultados se obtienen impresos con una curva estándar, concentraciones de las muestras y controles, etc. (ver información más detallada en el manual del MultiCalc).

La evaluación del riesgo se puede calcular con la ayuda del software LifeCycle for Prenatal Screening (consultar el manual de LifeCycle nº 5002-9010).

Control de calidad

Se recomienda el uso de sueros de control para cerciorarse de la validez de los resultados día a día. Los controles deben procesarse de la misma manera que las muestras. También se recomienda que el laboratorio prepare sus propias mezclas de suero a distintos niveles o alternativamente, que utilice productos comerciales de control, como el Sero Maternal Health Control – Early (nº de ref. 3015-0010). En cada ensayo se debe hacer un control del nivel alto, medio y bajo; si el ensayo incluye más de una placa, procesar controles en cada placa. Sólo se deben notificar los resultados del paciente si los resultados de los controles del ensayo cumplen los criterios de aceptación establecidos por el laboratorio (12).

Asimismo, se recomienda la participación en programas de control de calidad externos.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Como en los demás ensayos diagnósticos, un juicio clínico definitivo no deberá nunca basarse en el resultado de un único ensayo, sino tan sólo después de haber sido evaluados por el médico todos los datos clínicos y de laboratorio. Wallac Oy no se responsabiliza de las decisiones clínicas adoptadas por el personal facultativo.

Los factores de riesgo calculados con el programa LifeCycle for Prenatal Screening son sólo una orientación al médico para que evalúe el riesgo de anomalías en el feto. La interpretación de los resultados debe ser analizada por el médico en relación con todos los demás factores que considere importantes. Wallac Oy no se responsabiliza de los riesgos individuales calculados con cualquier otro programa.

Las diferencias en las poblaciones pueden conducir a distintos valores medios. El margen de confianza puede variar con los datos de la población.

Sólo se pueden conseguir resultados óptimos de las pruebas si se conoce exactamente la duración del embarazo.

Es importante que, antes de usarlos, todos los reactivos y muestras estén a la temperatura ambiente y que **la temperatura de incubación no supere nunca los +30°C**.

Si la concentración de hCGβ libre en las muestras de pacientes supera (o se espera que supere) 200 ng/mL, se deben diluir las muestras con el DELFIA Diluent II.

Ver también las secciones "NOTAS DE PROCEDIMIENTO" y "TOMA DE LAS MUESTRAS Y ESTABILIDAD DEL ANALITO".

VALORES ESPERADOS E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Tenga en cuenta que los valores mencionados en esta sección sólo deben ser tratados como un punto de referencia, ya que cada laboratorio debe establecer sus propios rangos.

A continuación se recogen los valores de hCGβ libre en el suero materno durante las distintas semanas de gestación. Se muestran únicamente como ejemplo y no deben utilizarse para el análisis de rutina. Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia debido a las diferencias poblacionales, el estado de las madres y de los fetos (ver también la sección "LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO").

Primer trimestre

Semana de gestación	Número de muestras	hCGβ libre (ng/mL)		
		Percentil 5	Mediana*	Percentil 95
9	69	30.0	68.9	216
10	296	25.7	70.3	190
11	557	17.4	53.8	177
12	1270	15.5	43.4	128
13	1916	14.7	36.4	105

* La duración del embarazo se basa en ecografía y FUR (fecha de última regla). La gestación se determinó según ecografía en 3118 casos y 990 según FUR. Los valores de la mediana son para semanas redondeadas, es decir, para calcular los datos de la mediana para la semana 11 se usan los valores de la semana 10, día 4 a la semana 11, día 3.

Estudio realizado con el kit B097-101 AutoDELFIA Free hCGβ en Wallac Oy, Turku, Finlandia. Las muestras fueron recogidas en Centros de Maternidad finlandeses, centrifugadas y congeladas en el propio centro. Luego se enviaron a Wallac Oy, donde se llevaron a temperatura ambiente y fueron analizadas en el mismo día.

Segundo trimestre

Semana de gestación	Número de muestras	hCGβ libre (ng/mL)		
		Percentil 5	Mediana*	Percentil 95
14	1411	8.9	23.1	69.9
15	8113	7.2	19.0	54.8
16	12457	5.9	15.4	44.9
17	7688	4.9	13.0	37.8
18	2182	4.1	10.8	29.8
19	936	3.4	8.9	25.8
20	533	3.2	8.0	22.0
21	229	2.6	7.5	18.3

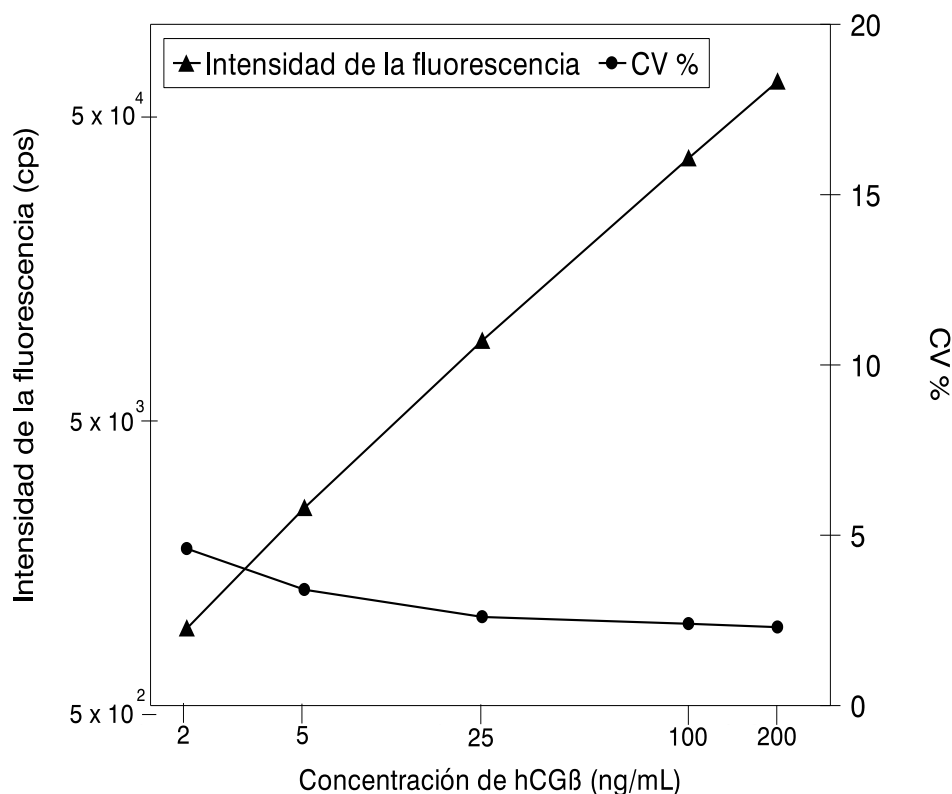
* Los valores de la mediana son para semanas redondeadas, es decir, para calcular los datos de la mediana para la semana 15 se usan los valores de la semana 14, día 4 a la semana 15, día 3. La duración del embarazo se basa en exploraciones ecográficas.

Datos basados en el uso continuado del kit DELFIA/AutoDELFIA hAFP/Free hCGβ Dual en programas de pruebas rutinarios.

Fuente: Birmingham Women's Hospital (RU)

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL ENSAYO⁵

A continuación se presenta una curva estándar típica y un perfil de precisión. El perfil de precisión se ha calculado con 277 mediciones duplicadas de los estándares y muestras de suero, utilizando el programa de cálculo MultiCalc.



Precisión: La variación se determinó en 9 ensayos con 6 duplicaciones. Mediante el análisis de la varianza se obtuvieron los siguientes resultados:

hCGβ libre	Valor total medio (ng/mL)	Variación intra-ensayo (% CV)	Variación entre ensayos (% CV)	Variación total (% CV)
Muestra 1	3.9	3.9	1.9	4.3
Muestra 2	18.3	4.0	1.7	4.3
Control 1	45.1	4.5	1.5	4.8

Sensibilidad analítica: La sensibilidad analítica es típicamente mejor que 0.2 ng/mL, si ésta se define como el valor que es 2 desviaciones estándar por encima del valor medio de las lecturas del estándar cero (valor medio + 2 desv. est.) (n = 20).

Recuperación: Se prepararon muestras sobrecargadas de suero, añadiendo distintos niveles de solución concentrada de hCGβ libre a un "pool" de muestras séricas que ya contenían una cantidad conocida de hCGβ libre. Las recuperaciones estaban dentro de los límites del 88 - 117%, con un valor medio del 102% (n = 7).

⁵ Estudios realizados con el kit A067-101 DELFIA hAFP/Free hCGβ Dual en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

Dilución: Se diluyeron 10 muestras de suero materno diferentes con el DELFIA Diluent II y se determinaron las concentraciones de hCG β libre observadas frente a las esperadas. Los resultados medios de cada serie de dilución eran del rango 92 - 103%, con un valor medio global del 97%.

Correlación:

Kit A097-101 DELFIA Free hCG β frente al kit B097-101 AutoDELFI Free hCG β :

Se comparó el kit A097-101 DELFIA Free hCG β (y) con el kit B097-101 AutoDELFI Free hCG β (x) utilizando muestras de pacientes con 5.5 - 169 ng/mL de hCG β libre. La correlación fue:

$$y = 1.00x + 1.02; \quad r = 0.99 \quad (n = 118)$$

Kit A097-101 DELFIA Free hCG β frente al kit A067-101 DELFIA hAFP/Free hCG β Dual:

Se comparó el kit A097-101 DELFIA Free hCG β (y) con el kit A067-101 DELFIA hAFP/Free hCG β Dual (x) utilizando muestras de pacientes con 6.2 - 178 ng/mL de hCG β libre. La correlación fue:

$$y = 0.92x + 0.92; \quad r = 0.99 \quad (n = 118)$$

Reacción cruzada: En la siguiente tabla se recoge la reacción cruzada en la determinación de la hCG β libre con otras hormonas:

Hormona	Concentración añadida	Concentración de hCG β libre medida
hCG	1400 U/L	< 0.2 ng/mL
hTSH	324 μ U/mL	< 0.2 ng/mL
hFSH	256 U/L	< 0.2 ng/mL
hLH	250 U/L	< 0.2 ng/mL
hTSH β	2 μ g/mL	< 0.2 ng/mL
hFSH β	2 μ g/mL	0.86 ng/mL
hLH β	2 μ g/mL	2.27 ng/mL

Efecto "hook": No presenta ningún efecto "hook" hasta concentraciones de 2000 ng/mL de hCG β libre.

GARANTIA

Los resultados aquí presentados se han obtenido por el procedimiento de ensayo indicado. Cualquier cambio o modificación en el procedimiento no recomendado por el fabricante puede afectar a los resultados, en cuyo caso Wallac Oy y sus filiales declinan cualquier responsabilidad y garantía otorgada, expresa o tácita, sobre la comercialización del producto y su uso.

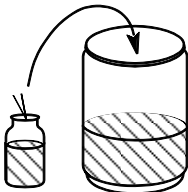
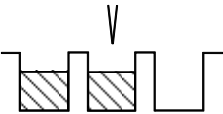
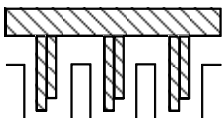
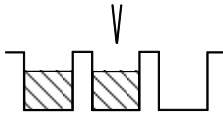
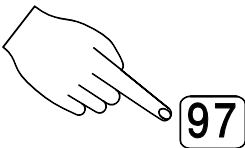
En tal caso, Wallac Oy, sus filiales y sus distribuidores autorizados no asumen ninguna responsabilidad por los daños o perjuicios directos o indirectos.

REFERENCIAS

1. Tojo, S., Ashitaka, Y., Maruo, T., Matsuura, S. and Nishimura, R. (1982): The biology and chemistry of human chorionic gonadotropin. In *Pregnancy Proteins*. Eds. J.G. Grudzinkas, B. Teisner and M. Seppälä. Academic Press, Australia, pp. 25-38.
2. Spencer, K. (1991): Evaluation of an assay of the free β -subunit of choriogonadotropin and its potential value in screening for Down's syndrome. *Clin. Chem.* **37**, 809-814.
3. Spencer, K., Coombes, E.J., Mallard, A.S. and Ward, A.M. (1992): Free beta human choriogonadotropin in Down's syndrome screening: a multicentre study of its role compared with other biochemical markers. *Ann. Clin. Biochem.* **29**, 506-518.
4. Soini, E. and Kojola, H. (1983): Time-resolved fluorometer for lanthanide chelates - a new generation of nonisotopic immunoassays. *Clin. Chem.* **29**, 65-68.
5. Hemmilä, I., Dakubu, S., Mikkala, V-M., Siitari, H. and Lövgren, T. (1984): Europium as a label in time-resolved immunofluorometric assays. *Anal. Biochem.* **137**, 335-343.
6. Lövgren, T., Hemmilä, I., Pettersson, K. and Halonen, P. (1985): Time-resolved fluorometry in immunoassays. In *Alternative Immunoassays*, ed. W.P. Collins. John Wiley & Sons Ltd., England, pp. 203-217.
7. Stevenson, H.P., Leslie, H. and Sheridan, B. (1993): Serum free β -human chorionic gonadotrophin concentrations increase in unseparated blood specimens. *Ann. Clin. Biochem.* **30**, 99-100.
8. Cuckle, H. (1996): Established markers in second trimester maternal serum. *Early Human Development*, **47** Suppl., pp. 27-29.
9. Canick, J.A. et al. (1988): Low second trimester maternal serum unconjugated estriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, **95**, 330-333.
10. Wald, N.J., Kennard, A. and Hackshaw, A.K. (1995): First trimester serum screening for Down's syndrome. *Prenatal Diagnosis*, **15**, 1227-1240.
11. Wald, N.J., George, L., Smith, D., Densem, J.W. and Petterson, K. (1996): Serum screening for Down's syndrome between 8 and 14 weeks of pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, **103**, 407-412.
12. Westgard, J.O. et al. (1981): A multi-rule chart for quality control. *Clin. Chem.* **27**, 493-501.

DELFIA[®] Free hCG β kit

Protocolo resumido

Reconstituir los estándares		1.1 mL agua desionizada al menos 30 min.		
Diluir el trazador (véase la tabla)		Tiras	Solución madre de trazador (μ L)	Tampón (mL)
		1	30	3
		2	60	6
		3	90	9
		4	120	12
		5	150	15
		6	180	18
		7	210	21
		8	240	24
Añadir trazador diluído, estándares y muestras		200 μ L + 25 μ L		
Incubar		2.5 h agitación lenta a T.A. (max +30°C)		
Lavar		Programa 97 (x 6)		
Intensificar		200 μ L, 5 min. agitación lenta		
Leer		KIT 97 (Comprobar las concentraciones de los estándares en el certificado de CC)		