

Inmunoensayo









REF CMC0402


100 Pruebas

Anti-HBe CLIA Micropartículas

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (CLIA Micropartículas) para la determinación cuantitativa de anti-HBe (anticuerpos contra el antígeno de la hepatitis B e) en suero o plasma humano (heparina).

Todas las marcas registradas son propiedad de sus respectivos dueños.

Clave para los símbolos gráficos utilizados			
	Código de lote		uso para
	fabricante		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Dispositivo medico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Limitación de temperatura
	Número de catálogo		Consulte instrucciones para uso

	AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD No.87 Jingbei Yi Road National Eco & Tech Development Area Zhengzhou China 450016
---	---

IVD

Para asistencia técnica por favor contáctese con nosotros en
Inglés a: Email: customerservice@autobio.com.cn
Contáctese con los distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas a los productos en su lenguaje local

Introducción

La hepatitis B es una enfermedad infecciosa causada por el VHB (virus de la hepatitis B) que infecta el hígado de la hominoidea, incluidos los humanos, y causa una inflamación llamada hepatitis.¹ Gran parte de la lesión hepática en la infección por VHB refleja la respuesta inmunitaria del huésped en lugar de un efecto citopático directo del virus. Durante el curso de la infección crónica por VHB, la disfunción bioquímica puede estar ausente durante períodos prolongados a pesar de la replicación activa.² Se produjo una insuficiencia hepática fulminante en un bebé de 11 semanas de edad de una madre caucásica que era antígeno de superficie de hepatitis B positivo, antígeno de hepatitis B e negativo, y Hepatitis B e anticuerpos positivos. Los bebés de madres con antígeno positivo para la hepatitis B e reciben inmunoprofilaxis contra la hepatitis, a diferencia de los nacidos de madres con anticuerpos positivos para la hepatitis B e.³ Según el estudio, 43 pacientes consecutivos con polimialgia reumática fueron estudiados para detectar marcadores serológicos del virus de la hepatitis B actual o anterior infección. Los signos de replicación del virus activo, que incluyen HBsAg respaldado por la presencia de HBeAg y Anti-HBc en títulos altos, no se encontraron en ningún caso.⁴

Principio de Medición

Este ensayo utiliza un método competitivo de un solo paso. Se combinan la muestra, las micropartículas recubiertas con HBeAg y Anti-HBe y el anti-HBe marcado con enzimas. Durante la incubación, el anticuerpo anti-HBe presente en la muestra y los anticuerpos marcados con enzimas compiten por la unión a los antígenos que recubren las micropartículas. Después del lavado, se genera un complejo por las reacciones inmunológicas entre la fase sólida y los anticuerpos que estaban presentes en la muestra. El complejo cataliza el sustrato, dando como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. La intensidad del color es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-HBe en la muestra.

Materiales provistos

1. Calibradores

En la siguiente tabla se muestran 6 viales que contienen 1,0 ml de calibrador A a F con las correspondientes concentraciones aproximadas de Anti-HBe. La matriz es Tris-NaCl que contiene plasma humano inactivado por calor positivo para Anti-HBe y BSA (albúmina de suero bovino). Contiene conservante ProClin 300®.

Calibradores suministrados listos para usar.

Calibrador	Concentración Anti-HBe (PEIU/ml)
A	0
B	0.14
C	0.42
D	1.05
E	2.1
F	4.2

2. Paquete de Reactivos

El paquete de reactivos provistos están listos para su uso.

● Conjugado de enzimas

1 vial que contiene 5,5 ml de anti-HBe monoclonal de ratón marcado con rábano picado peroxidasa en PBS (solución salina tamponada con fosfato) que contiene caseína. Contiene conservante ProClin 300®.

● Solución de Micropartículas

1 vial que contiene 2,3 ml de anticuerpo HBeAg humano y micropartículas recubiertas con antígeno HBeAg recombinante en PBS (solución salina tamponada con fosfato) que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene ProClin 300® y conservantes de azida sódica.

Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

- AutoLumo A2000

- AutoLumo A2000 Plus

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (Micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en Analizador de Ensayos, que es AutoLumo A2000 o AutoLumo A2000 Plus.

Materiales Requeridos pero no Provistos

1. Analizador de ensayo
2. Recipiente(s) de reacción para muestra reactivo de reacción
3. Copa(s) de muestra o tubo(s) para contener muestra
4. Diluyente Universal
5. Sustrato Quimioluminiscente
6. Sistema de lavado para el lavado de la aguja de pipeteo.
7. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
8. Agua destilada o desionizada.

Trazabilidad Metrológica De Calibradores

Los calibradores del producto se fabrican con anti-HBe de grado puro y se ajustan a la señal de nuestros calibradores de trabajo, que también se ajustan a la señal de un calibrador comprado a PEI (Paul-Ehrlich-Institut, Alemania) en cada nivel de concentración.

Advertencias y Precauciones

1. Para uso profesional solamente.
2. Siga las instrucciones de uso con cuidado. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si hay alguna desviación de las instrucciones en este manual de uso.
3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y la etiqueta del producto para conocer los peligros químicos que pueden estar presentes en este ensayo.
4. Maneje los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. PRECAUCIÓN: los calibradores contienen material de origen humano, que ha sido probado y no es reactivo para HBsAg, HIV-1 and HIV-2, HCV y sífilis. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos. Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos se originan en países donde no se ha notificado encefalopatía espongiiforme (EEB).
6. Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel. Debe evitarse el contacto con la piel. Este material y su recipiente deben desecharse de forma segura. En caso de ingestión, consulte a un médico inmediatamente y muestre este envase o etiqueta.
7. No fume, beba, coma o use cosméticos en el área de trabajo.
8. Use ropa protectora y guantes desechables cuando trate con muestras y reactivos. Lavarse las manos luego de las operaciones.
9. Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas desechables o puntas de pipeta.
10. Conduzca el ensayo lejos de malas condiciones ambientales por ejemplo aire ambiente que contiene alta concentración de gas corrosivo, como ácido clorhídrico sódico, alcalino, acetaldehído, etc., o que contiene polvo.
11. No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
12. No mezcle ni use componentes de kits con diferentes códigos de lote.
13. Cuando almacene los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
14. Asegúrese de que las micropartículas estén resuspendidas antes de cargarse en el analizador.
15. Evite formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
16. No sustituya ningún reactivo en este kit de otros fabricantes u otros lotes.

17. Cuando se observe cualquier daño al empaque protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico no use el kit.

Almacenamiento

1. Almacenar el kit a 2-8 °C. No congelar. Evite la luz fuerte. Cuando se almacena según las indicaciones, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad.
2. Refrigere el paquete de reactivos a 2-10 °C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
3. Almacene el paquete de reactivos en posición vertical a 2-10 °C en el analizador. Pueden almacenarse en el analizador por un máximo de 28 días. Después de 28 días, el paquete de reactivos debe desecharse. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-8 °C en posición vertical. Para los reactivos almacenados fuera del analizador, se recomienda que se almacenen en sus bandejas y cajas originales para garantizar que permanezcan en posición vertical.
4. Una vez que el paquete de reactivos está abierto, se puede almacenar a 2-8 °C durante 1 mes.
5. Selle y devuelva los calibradores reconstituidos a 2-8 °C, bajo qué condiciones se mantendrá la estabilidad durante 1 mes, para un uso más prolongado, almacene los calibradores reconstituidos en alícuotas y congele a -20°C. Evite los ciclos múltiples de congelación y descongelación.

Muestra

1. Recolectar muestras de suero de acuerdo con las prácticas médicas correctas.
2. No utilice muestras inactivadas por calor. No use conservante de azida de sodio en las muestras.
3. No utilice muestras con contaminación microbiana obvia.
4. Los sedimentos y los sólidos suspendidos en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que haya tenido lugar la formación completa de coágulos en las muestras de suero antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben terapia anticoagulante o trombolítica, pueden mostrar un aumento del tiempo de coagulación. Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo completo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Asegúrese de que las muestras no estén descompuestas antes de usarlas.
5. Antes del envío, se recomienda retirar las muestras del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
6. El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados deprimidos.
7. Evite muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
8. Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8 horas, para un uso más prolongado, las muestras se deben tapar y almacenar de 2 a 8 °C hasta 48 horas. O bien, congele las muestras que deben almacenarse o transportarse durante más de 48 horas a -20°C. Evitar múltiples ciclos de congelación y descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas mediante vórtice de baja velocidad o invirtiendo 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras, si observa estratificación o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Después de descongelar, llevar a temperatura ambiente y mezclar bien agitando suavemente.
9. Centrifugar las muestras descongeladas que contengan glóbulos rojos o material particulado, o que tengan una apariencia brumosa o turbia, etc. antes de su uso para garantizar la consistencia en los resultados.
10. Tenga en cuenta que los niveles de interferencia de fibrina pueden estar presentes en muestras que no tienen partículas visibles o evidentes.
11. Si no se puede verificar la recolección y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han alterado debido al transporte o

manejo de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deben ser suficientes para eliminar las partículas.

12. Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras para detectar burbujas. Eliminar las burbujas con una punta antes de su análisis. Use una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Procedimiento de medición

1. Comprobar los materiales consumibles.
 - Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de realizar la prueba.
 - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
2. Cargar el kit
 - Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el analizador. Evitar la formación de espuma en todos los reactivos. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.
 - Lea el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
 - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
 - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
3. Orden de pruebas
 - Coloque los vasos o tubos de muestra en el porta muestras, 50 µl de muestras y calibradores para cada prueba. Pero teniendo en cuenta el contenedor de muestra y 150 µl de volúmenes muertos del sistema, que pueden consultarse en los manuales apropiados del analizador de ensayos para obtener el volumen mínimo de muestra requerido.
 - Cargue el soporte de muestra e ingrese la información de muestra en la interfaz del software del sistema.
 - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador automáticamente ejecuta las pruebas. Realiza las siguientes funciones:
 - Mueve la muestra al punto de ajuste.
 - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso.
 - Aspira y transfiere la muestra al recipiente de reacción.
 - Agrega solución de micropartículas y conjugado enzimático al recipiente de reacción
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
 - Agrega Sustrato Quimioluminiscente
 - Mide la emisión de quimioluminiscencia para determinar la cantidad de anti-HBe en la muestra
 - Descarta el recipiente de reacción usado.
 - Calcula el resultado.
 - Consulte el manual de operación del analizador de ensayos.
4. Calibrar la curva
 - El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros necesarios para la prueba.
 - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
 - Transfiera los calibradores a los vasos o tubos de muestra y colóquelos en el soporte de muestra. Realizar la detección de duplicados en el sistema.
 - Cargue el soporte de muestra y la información de los calibradores de entrada en la interfaz del software del sistema.
 - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración; se requiere una calibración cada 28 días.
 - Una vez que se acepta y almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:

- Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
- Se utiliza un kit de reactivos y un sustrato quimioluminiscente con un nuevo código de lote.
- Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
- Partes importantes del analizador son reemplazadas o reparadas.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

5. Diluir la muestra

Las muestras con un valor anti-HBe superior a 4,2 PEI U / ml se pueden diluir con la dilución automatizada. El diluyente Universal se utiliza para diluir las muestras. Después de la dilución del analizador, el software automáticamente toma en cuenta la dilución al calcular la concentración de la muestra.

- La concentración de la muestra después de la dilución no debe ser inferior a 0,14 PEI U / ml.

Resultados de medición

El software del sistema determina automáticamente los resultados de las pruebas de muestra utilizando un método de reducción de datos de ajuste de curva logística de 4 parámetros. La cantidad de Anti-HBe en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida por medio de los datos de calibración almacenados. Los resultados de las pruebas de muestra se pueden revisar utilizando la pantalla apropiada. Consulte el Ensayo los criterios de este ensayo. El resultado repetidamente reactivo es la observación o revisión dinámica recomendada por otro enfoque.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que sirve, según los factores geográficos, del paciente, de la dieta o ambientales.

1 PEI U / ml ≈ 1.2 UI / ml₅

Procedimiento de control

El requisito de control recomendado para este ensayo es comprar los materiales de control por separado y probarlos junto con las muestras dentro de la misma ejecución. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas. Cuando un valor de control está fuera del rango especificado, puede indicar un deterioro de los reactivos o errores en la técnica. Los resultados de las pruebas asociadas pueden ser inválidos y pueden requerir una nueva prueba. La recalibración del ensayo puede ser necesaria. Se recomienda que cada laboratorio establezca su rango aceptado para garantizar un rendimiento de prueba adecuado.

Limitaciones de procedimiento

1. Este ensayo pretende ser una ayuda para el diagnóstico clínico. Lleve a cabo este análisis junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y los resultados de otras pruebas.
2. Si los resultados son inconsistentes con la evidencia clínica, pruebas adicionales se sugiere confirmar el resultado.
3. Los anticuerpos heterofílicos en suero humano pueden reaccionar con inmunoglobulinas reactivas, lo que interfiere con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes expuestos rutinariamente a animales o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y se pueden observar valores anómalos. Se puede requerir información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no es adecuado para ser analizado por este ensayo.
4. No se ha establecido el rendimiento de esta prueba con muestras neonatales.
5. Este ensayo fue diseñado y validado para su uso con suero humano de pacientes individuales y muestras de donantes. Las muestras agrupadas no deben usarse ya que la precisión de los resultados de sus pruebas no se ha validado.
6. Este ensayo solo no diferencia entre la respuesta inmune inducida por la vacuna y la respuesta inmune inducida por una infección natural.
7. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 0.08-4.5 PEI U / ml. Si se esperan concentraciones de Anti-HBe por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con Diluent Universal, la dilución máxima es 1:20 de esta prueba, lo que permite que las muestras se cuantifiquen hasta aproximadamente 90 PEI U / ml.

Intervalo de referencia biológica

Se obtuvo un rango normal de menos de 0.15 PEI U / ml (intervalo central del 95%) analizando muestras de 200 individuos definidos como pacientes infectados con VHB y 800 individuos definidos como normales por el médico.

Las muestras con una concentración entre 0.15-0.4 PEI U / ml se consideran en el límite y se deben volver a analizar por duplicado para confirmar el resultado inicial. Después de la nueva prueba, si ambos valores de la nueva prueba son <0.15 PEI U / ml, la muestra se considera no reactiva para el Anti-HBe. Si cualquiera de los valores de reevaluación es ≥

0,15 PEI U / ml, la muestra se debe considerar reactiva para Anti-HBe según los criterios de este ensayo. Se recomienda un resultado repetidamente reactivo, observación dinámica o revisión por otro método.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que sirve, según los factores geográficos, del paciente, de la dieta o ambientales.

1 PEI U / ml ≈ 1.2 UI / ml₅

Características de rendimiento

1. Precisión de medida

Este ensayo está diseñado para tener una precisión dentro de la ejecución de <10%. Se analizaron 2 miembros del panel basado en plasma humano agrupados (1 y 2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros del panel	Lote	n	Media	Precisión dentro de la corrida	
				SD	%CV
1	1	10	0.94	0.03	3.19
1	2	10	1.01	0.05	4.95
1	3	10	1.06	0.07	6.60

Este ensayo está diseñado para tener una precisión entre ejecuciones de <15%. Se analizaron 2 miembros del panel basado en plasma humano agrupados (1 y 2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10, una vez al día durante 3 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros del Panel	Lote	n	Media	Precisión entre corridas	
				SD	%CV
1	1	30	1.01	0.05	4.95
2	1	30	0.58	0.02	3.44

2. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica, definida como la concentración correspondiente a las RLU medias de 20 repeticiones del calibrador A (calibrador cero) menos 2 desviaciones estándar, es ≤0.03 PEI U / ml.

3. Especificidad analítica

Reacción cruzada: este ensayo se evaluó para determinar la reactividad cruzada potencial para muestras de individuos con afecciones médicas no relacionadas con la infección por Anti-HBe. Se evaluaron 52 muestras potencialmente reactivas de pacientes. 49 estas muestras no eran reactivas con este ensayo. 3 muestras permanecieron positivas después de repetir las pruebas en el ensayo de duplicado y de referencia. Los datos se resumen en la siguiente tabla.

Categoría	No.	Anti-HBe CLIA Ensayo de microparticulas	
		Reactivo	No reactivo
HCV-IgG	5	0	5
HIV	8	0	8
HEV-IgG	10	0	10
HAV-IgM	10	0	10
RF	10	0	10
Anti-HBc	9	0	9

Interferencia: No hay interferencia con 1,25 mg / ml de hemoglobina, 200 mg / l de bilirrubina, 20 mg / ml de Intralipid.

4. Sensibilidad clínica

La sensibilidad se determinó analizando muestras que se encontraron positivas en un ensayo de referencia y probadas en este ensayo Anti-HBe. Se analizaron un total de 281 muestras de suero y plasma que dieron positivo para Anti-HBe. La sensibilidad en esta población fue del 95,02%. Los resultados del estudio se muestran a continuación.

Categoría de muestra	Número de muestras probadas	Número de muestras reactivas probadas	Sensibilidad
Anti-HBe Reactivo	281	267	95.02%

5. Especificidad clínica.

La especificidad se determinó analizando muestras que se encontraron negativas en un ensayo de referencia y probadas en este ensayo Anti-HBe. Todas las muestras que resultaron ser repetidamente reactivas en este ensayo se procesaron en otro ensayo Anti-HBe. En un estudio, se analizaron un total de 751 muestras. Estas muestras estaban compuestas por donantes de sangre voluntarios de diferentes sitios. La especificidad sobre la población voluntaria de donantes de sangre fue del 98%. Los resultados de este estudio se muestran a continuación.

Categoría de muestra	Número de muestras probadas	Número de muestras reactivas probadas	Especificidad
Anti-HBe no reactivo	751	15	98%

Literatura de Referencia

1. Barker LF, Shulman NR, Murray R, et al. Transmission of serum hepatitis. 1970. JAMA. 1996;276(10):841-844.
2. Lok AS, Lai CL. Acute exacerbations in Chinese patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. Incidence, predisposing factors and etiology. J. Hepatol. 1990;10(1):29-34.
3. Ewing CI, Davidson DC. Fatal hepatitis B in infant born to a HBsAg carrier with HBeAb. Arch. Dis. Child. 1985;60(3):265-267.
4. Elling H, Skinhøj P, Elling P. Hepatitis B virus and polymyalgia rheumatica: a search for HBsAg, HBsAb, HBcAb, HBeAg, and HBeAb. Ann. Rheum. Dis. 1980;39(5):511-513.
5. Olivia Knauer, Peter Volkens, Sigrid Nick, et al. Report of the WHO collaborative study to establish the First International Standard for detection of antibodies to hepatitis B virus e antigen (anti-HBe) [J]. Expert Committee on Biological Standardization, 2013, (2229):1:38

