

Inmunoensayo









REF CMC0102


100 pruebas

HBsAg CLIA Micropartículas

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (CLIA Micropartículas) para la determinación cuantitativa de la concentración de HBsAg (Antígeno de Hepatitis B de superficie) en suero o plasma (heparina) humano.

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
Ingles a: Email: customerservice@autobio.com.cn
Contáctese con los distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas a los productos en su lenguaje local

propagar a través del contacto con la sangre, el semen, los fluidos vaginales u otros fluidos corporales de alguien que ya tiene una infección por hepatitis B. El VHB puede transmitirse a un bebé durante el parto si la madre está infectada.¹ Es un problema de salud global importante y el tipo más grave de hepatitis viral. Puede causar enfermedad hepática crónica y pone a las personas en alto riesgo de muerte por cirrosis hepática y cáncer de hígado.² Se solía creer que el VHB se elimina completamente con anticuerpos antiviricos y linfocitos T citotóxicos específicos (CTL) durante virales agudos. hepatitis. Sin embargo, se ha demostrado que los rastros de HBV a menudo son detectables en la sangre durante muchos años después de la recuperación clínica de la hepatitis aguda, a pesar de la presencia de anticuerpos séricos y CTL específicos para HBV, que pueden estar presentes en niveles agudos.³ La prevalencia global de Los portadores de VHB varían enormemente y los países pueden definirse como que tienen una prevalencia alta, intermedia y baja de infección por VHB basada en una prevalencia de portadores de HBsAg de $\geq 8\%$, $2\% - 7\%$ y $< 2\%$ respectivamente.^{4,5}

Principio de medición

Este ensayo utiliza un método de sándwich de dos pasos. En el primer paso, la muestra se agrega a las micropartículas recubiertas con anti-HBs. Durante la incubación, el HBsAg presente en la muestra se une a los anticuerpos que recubren las micropartículas. Después del lavado, en el segundo paso, se agrega un conjugado de anticuerpo-enzima anti-HBs. Durante esta etapa de incubación, los HBsAg unidos a la fase sólida se dejan reaccionar con los anticuerpos marcados con enzimas, lo que da como resultado que el HBsAg se intercala entre la fase sólida y los anticuerpos unidos a enzimas. Después del lavado, se genera un complejo por reacciones inmunológicas entre el anticuerpo en fase sólida, el HBsAg que estaba presente en la muestra y el anticuerpo en el conjugado enzimático. El complejo cataliza el sustrato, dando como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. La RLU es proporcional a la cantidad de HBsAg 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 HBsAg. La matriz es Tris-NaCl que contiene plasma humano inactivado por calor positivo para HBsAg y BSA (albúmina de suero bovino). Contiene conservante ProClin 300®.

Calibradores suministrados listos para usar.

Calibrador	Concentración HBsAg (IU/ml)
A	0
B	0.05
C	0.4
D	4
E	40
F	250

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-HBs policlonales de cabra marcados con peroxidasa de rábano picante en PBS (solución salina tamponada con fosfato) que contiene caseína y BSA (albúmina de suero bovino). Contiene conservante ProClin 300®.

● Solución de micropartículas

1 vial que contiene 2,3 ml de micropartículas recubiertas de anti-HBs monoclonales de ratón 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 de productos se fabrican con HBsAg 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 NICPBP (Instituto Nacional para el Control de Productos Farmacéuticos y Biológicos, China) 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 espongiforme (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.

- Una vez que el paquete de reactivos está abierto, se puede almacenar a 2-8 °C durante 1 mes.
- 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

- Recolectar muestras de suero de acuerdo con las prácticas médicas correctas.
- No utilice muestras inactivadas por calor. No use conservante de azida de sodio en las muestras.
- No utilice muestras con contaminación microbiana obvia.
- 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.
- Antes del envío, se recomienda retirar las muestras del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
- El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados deprimidos.
- Evite muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
- 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.
- 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.
- Tenga en cuenta que los niveles de interferencia de fibrina pueden estar presentes en muestras que no tienen partículas visibles o evidentes.
- 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.
- 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

- 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.
- 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.
- 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 HBsAg en la muestra
- 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.
- Diluir la muestra

Las muestras con un valor de HBsAg superior a 250 UI / ml pueden diluirse con un método de dilución manual o con un método de dilución automatizado. 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.

- Cuando diluya las muestras con el Diluyente Universal manualmente, multiplique el resultado de detección por el factor de dilución para obtener el resultado final.
- La dilución recomendada de esta prueba es 1:500.
- La concentración de la muestra después de la dilución no debe ser

inferior a 0,05 UI / 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 HBsAg 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 usando la pantalla apropiada. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos para revisar los resultados de las muestras.

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. Aunque la asociación de la infectividad y la presencia de HBsAg es fuerte, se reconoce que los métodos actualmente disponibles para la detección de HBsAg no son lo suficientemente sensibles como para detectar todas las unidades de sangre potencialmente infecciosas o los posibles casos de infección por HBV.
7. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 0.03-250 UI / ml. Si se esperan concentraciones de HBsAg por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con el Diluyente Universal, la dilución máxima es 1: 500 de esta prueba, lo que permite que las muestras se cuantifiquen hasta aproximadamente 125000 UI / ml.

Intervalo de referencia biológica

Se obtuvo un rango normal de menos de 0,05 UI / ml (intervalo central del 95%) analizando muestras de 1040 individuos definidos por el médico como normales.

Las muestras con una concentración entre 0.03-0.08 UI / ml se consideran en el límite y se deben volver a analizar por duplicado para confirmar el resultado inicial. Después de repetir la prueba, si los dos valores de la nueva prueba son <0.05 IU / ml, la muestra se considera no reactiva para HBsAg. Si cualquiera de los valores de reevaluación es $\geq 0,05$ UI / ml, la muestra debe considerarse reactiva para HBsAg según 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.

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 corrida	
				SD	%CV
1	1	10	2.44	0.10	4.10
2	1	10	0.14	0.01	7.14

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 2, 10 veces por día durante 3 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros de panel	Lote	n	Media	Precisión entre corridas	
				SD	%CV
1	1	30	2.31	0.14	6.06
2	1	30	0.14	0.01	7.14

2. Sensibilidad Analítica

LoB, definida como la concentración correspondiente a las RLU medias de 20 repeticiones del calibrador A (calibrador cero) más 2 desviaciones estándar, es 0,01 UI / ml.

LoD, 0.02 UI / ml, se determina según el límite de blanco y la desviación estándar de las muestras de baja concentración. El límite de detección corresponde a la concentración de analito más baja que se puede detectar (valor por encima del límite de blanco con una probabilidad del 95%). La sensibilidad funcional, 0.03 IU / ml, se determina utilizando grupos de suero humano, realizados con un instrumento y durante tres ciclos de calibración, con 3 lotes de reactivos, generando 3 réplicas por ensayo, en 20 ejecuciones, la sensibilidad funcional del 20% entre los CV en ejecución fue obtenido.

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 HBsAg. Se evaluaron 42 muestras potencialmente reactivas de pacientes. Todas estas muestras fueron no reactivas con este ensayo y ensayo de referencia. Los datos se resumen en la siguiente tabla.

Categoría	No.	Ensayo de micropartículas HBsAg CLIA	
		Reactivo	No reactivo
HCV-IgG	8	0	8
HIV-IgG	8	0	8
HEV-IgM	8	0	8
HAV-IgM	8	0	8

Interferencia: No hay interferencia con 2.5 mg / ml de hemoglobina, 200 mg / l de bilirrubina, 20 g / l de Intralipid

4. Precisión de la medición por correlación

Se realizó un estudio comparativo en el que se analizaron muestras utilizando este ensayo y una prueba de HBsAg basada en micropartículas que ya estaba disponible en el mercado. Los datos fueron analizados y se resumen en la siguiente tabla.

Método de correlación	Número de muestras	Intercepta	Inclinación	Coefficiente de correlación
-----------------------	--------------------	------------	-------------	-----------------------------

Regresión lineal	300	18.446	0.7494	0.8138
------------------	-----	--------	--------	--------

5. Sensibilidad clínica

La sensibilidad se determinó analizando muestras que se encontraron positivas en un ensayo de referencia y probadas en este ensayo de HBsAg. Se analizaron un total de 1298 muestras de suero y plasma que dieron positivo para HBsAg. La sensibilidad en esta población fue del 99.77%. Los resultados del estudio se muestran a continuación.

Categoría de muestra	Número de muestras probadas	Número de muestras reactivas <u>Probadas</u>	Sensibilidad
HBsAg Reactivo	1298	1295	99.77%

6. Especificidad clínica

La especificidad se determinó analizando muestras que se encontraron negativas en un ensayo de referencia y probadas en este ensayo de HBsAg. Todas las muestras que resultaron ser repetidamente reactivas en este ensayo se procesaron en otro ensayo de HBsAg. En un estudio, se analizaron un total de 5630 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 99,91%. Los resultados de este estudio se muestran a continuación.

Categoría de la muestra	Número de muestras probadas	Número de muestras reactivas repetidas	Especificidad
HBsAg no reactivo	5630	5	99.91%

7. Paneles de seroconversión

Se analizaron 7 paneles de seroconversión con este ensayo. En todos los paneles, este ensayo muestra un aumento significativo en la concentración tras la seroconversión correlacionada con el cambio, ya que es detectable en ensayos cualitativos.

Literatura de Referencia

1. Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. N. Engl. J. Med. 2008;359(14):1486-1500.
2. Knowles B, Howe C, Aden D. Human hepatocellular carcinoma cell lines secrete the major plasma proteins and hepatitis B surface antigen. Science.1980;209(4455):497-499.
3. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. Nat Med. 1996;2(10):1104-1108.
4. Gust ID. Epidemiology of hepatitis B infection in the Western Pacific and South East Asia.Gut. 1996;38 Suppl 2:S18-23.
5. Toukan A. Strategy for the control of hepatitis B virus infection in the Middle East and North Africa. Vaccine. 1990;8:S100-S106.