

Inmunoensayo

REF
CMB1801 / CMB1802 / CMB1803 / CMB1804 / CMB1805
50 pruebas*1 / 100 pruebas*1 / 100 pruebas*2 / 100 pruebas*5 / 50 pruebas*2

HE4 CLIA Micropartículas

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) para la determinación cuantitativa de HE4 (proteína 4 del epidídimo humano) en suero humano.

Todas las marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

Key to Graphical Symbols Used



Código de lote



Uso para



fabricante



contiene suficiente para <n> pruebas


Dispositivo medico de diagnóstico in vitro

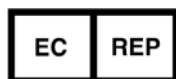

Límite de temperatura



Número de catálogo



Consulte instrucciones de uso



representante autorizado en la Comunidad Europea



OBELIS S.A.
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels
Belgium

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



Para cualquier asistencia técnica, contáctenos en inglés a:

Email: customerservice@autobio.com.cn

Comuníquese con sus distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas con el producto en su idioma local

Introducción

La proteína 4 del epidídimo humano (HE4) pertenece a la familia de proteínas de núcleo de cuatro disulfuro de suero ácido (WFDC) con propiedades inhibitorias sospechosas de trisina.¹ El gen HE4 codifica una proteína de 13 kD, aunque en su forma glicosilada madura la proteína es aproximadamente 20- 25 kD, y consiste en un péptido único que contiene 2 dominios WFDC.^{2,3} HE4 se determinó por primera vez en el epitelio del epidídimo distal.⁴ Muestra baja expresión en la epitelia de los tejidos respiratorios y reproductivos, incluido el ovario, pero alta expresión en el ovario tejido canceroso.⁵ También se pueden encontrar altos niveles secretados en el suero de pacientes con cáncer de ovario. HE4 es útil en la evaluación del riesgo de cáncer de ovario epitelial. Como marcador tumoral único, HE4 tuvo la mayor sensibilidad para detectar el cáncer de ovario, especialmente en la enfermedad en estadio I, el estadio temprano no sintomático. Combinado con otros marcadores como CA125, HE4 puede ayudar a determinar si una masa pélvica es benigna o maligna en mujeres pre y posmenopáusicas.⁶

Principio de medición

Este ensayo se basa en el método sándwich de dos pasos. En el primer paso, se combinan la muestra y las micropartículas recubiertas de anticuerpo HE4. Durante la incubación, el antígeno HE4 presente en la muestra se une al anticuerpo que recubre las micropartículas. Después del lavado, en el segundo paso, se agrega el conjugado enzimático a la mezcla de reacción. Durante la incubación, se genera un complejo entre las micropartículas, el antígeno HE4 dentro de la muestra y los anticuerpos ligados a enzimas mediante reacciones inmunológicas. Se agrega el sustrato quimioluminiscente y el complejo cataliza el sustrato, dando como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. El RLU es proporcional a la cantidad de HE4 en las muestras.


Materiales suministrados

1. Calibradores

6 viales de calibrador liofilizado A a F. La matriz es tampón Taps-NaCl que contiene BSA. Contiene una selección de conservantes. Calibradores proporcionados listos para usar.

2. Paquete de reactivo

El paquete de reactivos se proporciona listo para usar.

|  | 50*1 | 100*1 | 100*2 | 100*5 | 50*2 |
|---|---------|----------|----------|----------|---------|
| Solución de micropartículas | 1.2mL*1 | 2.3mL*1 | 2.3mL*2 | 2.3mL*5 | 1.2mL*2 |
| Conjugado de enzima | 5.5mL*1 | 11.0mL*1 | 11.0mL*2 | 11.0mL*5 | 5.5mL*2 |
| Duluyente de muestra | 3.0mL*1 | 5.5mL*1 | 5.5mL*2 | 5.5mL*5 | 3.0mL*2 |

• Solución de micropartículas

Micropartículas recubiertas de anticuerpo monoclonal HE4 de ratón en tampón Taps-NaCl que contiene BSA. Contiene una selección de conservantes.

• Conjugado de enzima

Anti-HE4 monoclonal de ratón marcado con peroxidasa de rábano picante en tampón Tris-NaCl que contiene BSA. Contiene una selección de conservantes.

• Diluyente de muestra

Tampón Taps-NaCl que contiene BSA. Contiene una selección de conservantes.

Assay Analyzers on which the kit can be used

- AutoLumo A2000 Plus
- AutoLumo A2000 Plus B
- AutoLumo A1000

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en el analizador de ensayo, que es AutoLumo A2000 Plus, AutoLumo A2000 Plus B o AutoLumo A1000.

Materiales Requeridos pero no suministrados

1. Analizador de ensayo
2. Vaso (s) de reacción para la muestra y la reacción del reactivo
3. Vaso (s) de muestra o tubo (s) para la muestra que contiene
4. Diluyente Universal
5. Sustrato quimioluminiscente
6. Lavador de sistema para lavar las agujas de pipeteado
7. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
8. Agua destilada o agua desionizada

Trazabilidad metrológica de calibradores

El mensurando o analito en los calibradores HE4 se puede rastrear hasta los calibradores de trabajo del fabricante. El proceso de trazabilidad se basa en EN ISO 17511. Los valores asignados se establecieron utilizando muestras representativas de este lote de calibrador y son específicos de las metodologías de ensayo de los reactivos. Los valores asignados por otras metodologías pueden ser diferentes. Tales diferencias, si están presentes, pueden ser causadas por sesgos entre métodos.

Advertencias y precauciones

1. Solo para uso profesional.
2. Siga cuidadosamente las instrucciones de uso. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si hay alguna desviación de las instrucciones de estas instrucciones de uso.
3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y el etiquetado del producto para conocer los peligros químicos que puedan estar presentes en este ensayo.
4. Manipule los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos proceden de países donde no se ha informado de la EEB.
6. No fume, beba, coma ni use cosméticos en el área de trabajo.
7. Use ropa protectora y guantes desechables cuando maneje muestras y reactivos. Lávese las manos después de las operaciones.
8. Realice el ensayo lejos de las malas condiciones ambientales. p.ej. aire ambiente que contenga gas corrosivo de alta concentración, como ácido hipoclorito de sodio, alcalino, acetaldehído, etc., o que contenga polvo.
9. No utilice reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
10. No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
11. Al almacenar los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
12. Asegúrese de que las micropartículas se vuelvan a suspender antes de cargarlas en el analizador.
13. Evite la formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
14. No sustituya ningún reactivo de este kit de otros fabricantes u otros lotes.
15. Cuando se observe algún daño en el embalaje protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico, no utilice el kit.

Almacenamiento

1. Guarde el kit a 2-8 °C. No congelar. Evite la luz fuerte. Cuando se almacena según las instrucciones, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad.
2. Refrigere el paquete de reactivo a 2-10 °C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
Almacene el paquete de reactivos sin sellar en posición vertical sobre el analizador o 2-10 °C durante un máximo de 28 días. Después de 28 días, se debe desechar el paquete de reactivos. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos en 2-10 °C en posición vertical.

3. Selle y devuelva los calibradores restantes a 2-8 °C inmediatamente después del experimento, bajo cuyas condiciones se mantendrá la estabilidad durante 28 días, para un uso más prolongado, almacene los calibradores abiertos en alícuotas y congele a -20 °C, bajo las cuales la estabilidad se mantendrá durante 3 meses. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación, no congele-descongele más de 3 ciclos.

Muestra

1. Recoja las muestras de suero de acuerdo con las prácticas médicas correctas.
2. No utilice muestras inactivadas por calor. No utilice conservante de azida sódica en las muestras.
3. No utilice muestras con contaminación microbiana evidente.
4. Los sedimentos y los sólidos en suspensión en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que se haya producido la formación completa del coágulo en las muestras de suero antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben terapia anticoagulante o trombolítica, pueden exhibir un mayor 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 se deterioren antes de su uso.
5. Antes del envío, se recomienda que las muestras se extraigan del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
6. Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipeta desechables.
7. El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte pueden causar resultados deprimidos.
8. Evite las muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
9. Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 24 horas; para un uso prolongado, las muestras deben taparse y almacenarse a 2-8 °C hasta 72 horas. O congele las muestras que necesitan ser almacenadas o transportadas por más de 72 horas a -20 °C. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas con un vórtice a baja velocidad o invirtiéndolas 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras, si se observa estratificación o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Después de descongelar, lleve a temperatura ambiente y mezcle bien agitando suavemente.
10. Centrifugue las muestras descongeladas que contengan glóbulos rojos o partículas, o que tengan un aspecto turbio o turbio antes de usarlas para asegurar la consistencia de los resultados.
11. Tenga en cuenta que pueden estar presentes niveles interferentes de fibrina en muestras que no tienen partículas obvias o visibles.
12. Si no se puede verificar la recolección y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han interrumpido debido al transporte o manipulación de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deberían ser suficientes para eliminar las partículas.
13. Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras en busca de burbujas. Elimine las burbujas con una punta antes del análisis. Utilice una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Procedimiento de medición

1. Verifique los materiales consumibles
 - Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de ejecutar la prueba.
 - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
2. Cargue 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. Evite 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 reactivo 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. Solicitar pruebas

- Coloque los vasos o tubos de muestra en la gradilla de muestras, 25 µL de muestras para cada prueba. Pero teniendo en cuenta el recipiente de la muestra y los 150 µL de volúmenes muertos del sistema, que pueden consultarse en los manuales del analizador de ensayo correspondientes para conocer el volumen mínimo de muestra requerido.
- Cargue la gradilla de muestras e ingrese la información de la muestra en la interfaz del software del sistema.
- Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador opera automáticamente 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 la solución de micropartículas y los diluyentes de muestras al recipiente de reacción
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción
 - Agrega conjugado enzimático al recipiente de reacción
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción
 - Agregue sustrato quimioluminiscente
 - Mide la emisión quimioluminiscente para determinar la cantidad de HE4 en la muestra
 - Desecha el recipiente de reacción usado
 - Calcula el resultado
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

4. Calibre la curva

- El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivo 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.
- Transfiera los calibradores a los vasos o tubos de muestras y colóquelos en la gradilla de muestras. Realice la detección de duplicados en el sistema.
- Cargue la gradilla de muestras 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 calibración cada 28 días.
- Una vez que se acepta y se 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
 - Se reemplazan o reparan partes importantes del analizador.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

5. Diluir la muestra

Las muestras con un valor de HE4 superior a 1500 pmol/L pueden diluirse mediante el programa del analizador. El Diluyente Universal se utiliza para diluir las muestras. El software tiene en cuenta la dilución al informar el resultado.

Resultados de medición

Los resultados de la prueba de muestra los determina automáticamente el software del sistema. La cantidad de HE4 en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida mediante los datos de calibración almacenados. 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

El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos aceptables. Cuando un valor de control está fuera del rango especificado, puede indicar deterioro de los reactivos o errores en la técnica. Los resultados de las pruebas asociadas pueden no ser válidos y pueden requerir una nueva prueba. Puede ser necesaria una recalibración del ensayo. Se recomienda que cada laboratorio establezca su rango aceptado para garantizar un rendimiento adecuado de la prueba

Limitaciones de procedimiento

1. Este ensayo está destinado a ayudar al diagnóstico clínico. Realice este ensayo junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y otros resultados de la prueba.
2. Si los resultados no concuerdan con la evidencia clínica, se sugiere realizar pruebas adicionales para confirmar el resultado.
3. Los anticuerpos heterofílicos y los factores reumatoides en las muestras pueden interferir con los resultados de la prueba. Los anticuerpos

heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas reactivas, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes expuestos habitualmente a animales o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y pueden observarse valores anómalos. Es posible que se requiera información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no son adecuadas para ser analizadas por este ensayo

4. No se ha establecido el rendimiento de esta prueba con muestras neonatales.
5. Los pacientes que han recibido anticuerpos monoclonales de ratón para el diagnóstico o la terapia pueden desarrollar HAMA (anticuerpos anti-ratón humanos). HAMA puede producir valores falsamente altos o falsamente bajos en inmunoensayos que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón. Es posible que se requiera información adicional para el diagnóstico
6. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 20-1500 pmol/L. Si se esperan concentraciones de HE4 por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con Diluent Universal, la dilución recomendada es 1:15 de esta prueba, bajo esta condición, lo que permite que las muestras estén hasta aproximadamente 24000 pmol/L.

Intervalo biológico de referencia

Se obtuvo un valor normal de ≤ 140 pmol/L (percentil 97,5) analizando muestras de suero de 2188 individuos definidos como normales por el médico. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que sirve, dependiendo de factores geográficos, del paciente, dietéticos o ambientales.

Características de rendimiento

1. Presición de medición

Se analizaron 3 muestras por duplicado, dos veces al día durante 20 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

| Muestra | n | Media (pmol/L) | Dentro de corrida | Total |
|---------|----|-------------------|----------------------|-------|
| | | | %CV | %CV |
| 1 | 80 | 107.93 | 1.71 | 2.91 |
| 2 | 80 | 239.46 | 1.74 | 2.75 |
| 3 | 80 | 602.78 | 2.14 | 3.07 |

* Datos representativos; Los resultados en laboratorios individuales pueden diferir de estos datos.

2. Sensibilidad Analítica

Límite de blanco=5.06 pmol/L

Límite de Detección=14.75pmol/L

Límite de cuantificación: 19.36pmol/L con un coeficiente de variación ≤ 20 %.

3. Especificidad Analítica

Reacción cruzada: se probaron las siguientes sustancias y concentraciones y no encontraron reacción cruzada con la prueba:

| Sustancias | Concentración |
|------------|---------------|
| CEA | 500 ng/mL |
| CA125 | 400 U/mL |
| CA15-3 | 500 U/mL |

Interferencia: Sin interferencias con 40 mg/dL de bilirrubina, 1000 mg/dL de hemoglobina, 3000 mg/dL de triglicéridos.

4. Exactitud de la medición por correlación

Se realizó un estudio de comparación en el que se analizaron muestras utilizando este ensayo y una prueba HE4 que ya estaba a la venta en el mercado. Los datos se analizaron y se resumen en la siguiente tabla.

| Método de correlación | Número de muestras | Intercepto | Pendiente | Coficiente de correlación |
|-----------------------|--------------------|------------|-----------|---------------------------|
| Regresión Linear | 309 | 49.9 | 1.0732 | 0.9915 |

5. Efecto gancho de dosis alta

Se determinó una muestra enriquecida con HE4 hasta 40000 pmol/L, el resultado de la concentración no tiene efecto GANCHO.

Literatura de referencia

1. Bouchard D, Morisset D, Bourbonnais Y, et al. Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer. *Lancet Oncol* 2006;7:167-74.
2. Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res* 2005; 65(6):2162-9.
3. Bingle L, Singleton V, Bingle CD. The putative ovarian tumor marker gene HE4(WFDC2), is expressed in normal tissue and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms. *Oncogene* 2002; 21:2768-73.
4. Kirchoff C. Molecular characterization of epididymal proteins. *Rev Reprod* 1998;3:86-95.
5. Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res* 2005;65:2162-2169.
6. Moore RG, Brown AK, Miller MC, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2008;108:402-408.