

MAGLUMI[®] HA (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de ácido hialurónico (HA, del inglés hyaluronic acid) en suero humano con el analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia completamente automático serie MAGLUMI (entre los que se encuentran Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El ácido hialurónico (HA; base conjugada hialuronato), también conocido como hialuronano, es un glucosaminoglucano aniónico no sulfatado ampliamente distribuido en el tejido conjuntivo, epitelial y neural. Es el único entre los glucosaminoglucanos que es no sulfatado, se forma en la membrana plasmática, en lugar del aparato de Golgi, y puede ser muy grande, con un peso molecular que a menudo alcanza los millones¹. Una persona promedio de 70 kg (154 lb) tiene, aproximadamente, 15 gramos de ácido hialurónico en el cuerpo, de lo cual un tercio se degrada y se sintetiza cada día². El ácido hialurónico también es un componente de la cápsula extracelular de los estreptococos del grupo A y se cree que desempeña un papel en la virulencia³⁻⁴.

El ácido hialurónico es sintetizado por una clase de proteínas de membrana integral llamadas sintasas del ácido hialurónico, de las cuales los vertebrados tienen tres tipos: HAS1, HAS2 y HAS3. Estas enzimas alargan el ácido hialurónico mediante la incorporación reiterada de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina a los polisacáridos activos a medida que se expulsa mediante los transportadores ABC a través de la membrana celular al espacio extracelular⁵. El ácido hialurónico es degradado por una familia de enzimas llamadas hialuronoglucosaminidasas. En los seres humanos, existen, al menos, siete tipos de enzimas como las hialuronoglucosaminidasas, muchas de las cuales son supresores de tumores. Los productos de degradación del ácido hialurónico, los oligosacáridos y el ácido hialurónico de muy bajo peso molecular poseen propiedades proangiogénicas. Además, estudios recientes demostraron que los fragmentos de ácido hialurónico, no la molécula nativa de alto peso molecular, pueden inducir respuestas inflamatorias en los macrófagos y las células dendríticas en las lesiones tisulares y el trasplante de piel⁶⁻⁷.

La fibrosis hepática, que es el resultado de una inflamación crónica del parénquima hepático, es un proceso dinámico y complejo que incluye un incremento en los componentes de la matriz extracelular, la activación de las células productoras de materiales de la matriz, la liberación de citocinas y la remodelación tisular. La biopsia hepática es el método estándar más usado para la evaluación de la fibrosis hepática. Sin embargo, se trata de un procedimiento invasivo y potencialmente peligroso⁸⁻⁹. Se han desarrollado marcadores no invasivos para evaluar la gravedad de la fibrosis hepática. Entre ellos, el ácido hialurónico (HA) en suero parece ser el más prometedor. En el hígado, el HA es principalmente sintetizado por células estrelladas hepáticas y degradado por células endoteliales de los sinusoides. Una porción del HA del tejido entra a la circulación general a través del sistema linfático. Las células endoteliales de los sinusoides toman la mayor parte en el hígado mediante receptores de hialuronato y los lisosomas lo degradan. La disminución de la función de las células endoteliales de los sinusoides en enfermedades hepáticas avanzadas puede elevar los niveles de HA en suero, a través de la disminución del número de receptores de hialuronato y una menor degradación de HA en las células endoteliales¹⁰⁻¹².

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de HA es un inmunoensayo competitivo de quimioluminiscencia.

La muestra (calibrador o control, si corresponde), el antígeno HABP libre y las microperlas magnéticas recubiertas con HA purificado se mezclan completamente y se incuban, para formar complejos. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y se realiza un ciclo de lavado para eliminar las sustancias sin unir. A continuación, se agrega aminobutiletilelisoluminol (ABEI) marcado con anticuerpo anti-HABP y se incuba para formar complejos. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y, luego, se realiza otro ciclo de lavado. Posteriormente, se agregan los iniciadores 1 + 2 para iniciar una reacción quimioluminiscente rápida. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, del inglés relative light units), y es inversamente proporcional a la concentración de HA presente en la muestra de prueba (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componente	Contenido	100 pruebas (REF: 130209001M)	50 pruebas (REF: 130609001M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas con antígeno HA purificado, con contenido de albúmina sérica bovina (BSA, del inglés bovine serum albumin), NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Con contenido de BSA y antígeno HA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Con contenido de BSA y antígeno HA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Antígeno HABP	Antígeno HABP libre, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	10,5 ml	6,5 ml
Marca de ABEI	Anti-HABP marcado con ABEI, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 ml	7,5 ml
Control de calidad interno	Con contenido de BSA y antígeno HA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml

Todos los reactivos se entregan listos para usarse.

Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

Módulo de reacción	REF.: 630003
Iniciador 1 + 2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.:130299005M
Comprobación de luz	REF.:130299006M
Vaso de reacción	REF: 130105000101

Pida accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método se estandarizó de acuerdo con la sustancia de referencia interna de SNIBE.

La prueba de calibradores específicos de ensayo permite que los valores de RLU ajusten la curva principal asignada. Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento por calibración de dos puntos y una curva principal (10 calibraciones) proporcionada a través de un CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID, del inglés radio frequency identification) del reactivo.

Se recomienda recalibrar en las siguientes situaciones:

- Después de cada cambio de lotes (reactivo o iniciador 1 + 2).
- Cada semana o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de que se requiere mantenimiento de los instrumentos.
- Si los resultados del control están fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Siga los reglamentos gubernamentales o los requisitos de acreditación concernientes a la frecuencia de control de calidad.

El control de calidad interno solo es aplicable con el sistema MAGLUMI y Biolumi. Para obtener instrucciones de uso y el valor objetivo, consulte **Información de control de calidad de HA (CLIA)**. El usuario debe evaluar los resultados con sus propios estándares y conocimientos.

Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema y las tendencias del cuadro, se necesitan materiales de control de calidad disponibles comercialmente. Trate todas las muestras de control de calidad del mismo modo que las muestras del paciente. Se logra un nivel satisfactorio de rendimiento cuando los valores de analito obtenidos se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, según lo determinado por un esquema de control de calidad interna del laboratorio adecuado. Si los resultados del control de calidad no entran dentro de los valores esperados o dentro de los valores establecidos del laboratorio, no informe los resultados. Realice las siguientes acciones:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Verifique que se haya realizado el mantenimiento necesario.
- Verifique que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Vuelva a ejecutar el ensayo con nuevas muestras de control de calidad.
- Si es necesario, comuníquese con sus distribuidores o los ejecutivos de soporte técnico locales para obtener asistencia.

PREPARACIÓN Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

- Utilice tubos de muestreo estándar o tubos que contengan gel de separación. Extraiga la sangre asépticamente luego de seguir las precauciones universales para la venopunción.
- Asegúrese de que la formación completa de coágulos en las muestras de suero haya tenido lugar antes de la centrifugación. Algunas muestras, en particular las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante o trombolítico, podrían tener un tiempo de coagulación mayor.
- Si la muestra se centrifuga antes de que se complete la coagulación, la presencia de fibrina puede producir resultados erróneos. Las muestras deben estar libres de fibrina y otras partículas.
- No use muestras hemolizadas o con marcada lipemia, ni tampoco muestras que contengan partículas o exhiban contaminación microbiana evidente. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimínelas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Evite repetir los ciclos de congelación y descongelación. La muestra de suero solo puede congelarse y descongelarse dos veces. Las muestras se deben mezclar completamente después de descongelarse.
- Las muestras centrifugadas con una capa lipídica en la parte superior deben trasladarse a un vaso de muestra o un tubo secundario. Se debe tener cuidado para transferir solo la muestra clarificada sin el material lipémico.
- Todas las muestras (muestras de pacientes y controles) deben analizarse en un plazo de tres horas después de colocarlas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio de SNIBE para obtener más detalles sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- Las muestras retiradas del separador, los glóbulos rojos o el coágulo pueden almacenarse hasta 24 horas a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
- Las muestras pueden almacenarse hasta 2 meses congeladas a -20 °C o menos. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes del uso (mezclador Vortex).
- Antes del envío de las muestras, se recomienda retirarlas del separador de suero, los glóbulos rojos o el coágulo. Al enviarse, las muestras deben embalarse y etiquetarse de conformidad con regulaciones estatales, federales e internacionales que abarquen el transporte de sustancias infecciosas y muestras clínicas. Las muestras deben enviarse congeladas.
- El volumen de muestra necesario para una sola determinación de HA es de 60 µl.

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

IVD

- Para usarse en diagnóstico *in vitro*.
- Siga el prospecto cuidadosamente. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si existe alguna desviación respecto de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **PRECAUCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras humanas. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos y que se manipulen de conformidad con lo dispuesto en 29 CFR 1910.1030 Exposición ocupacional a patógenos transmitidos por la sangre. Se debe usar el nivel de bioseguridad 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para materiales que contienen agentes infecciosos o que se sospecha que los contienen.
- Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales utilizados en el ensayo deben considerarse potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben eliminarse de acuerdo con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y en cumplimiento de los requisitos regulatorios imperantes.
- Este producto contiene azida de sodio. Los contenidos y recipientes deben desecharse en conformidad con todas las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a pedido.

Precauciones de manipulación

- No use kits de reactivos con la fecha de caducidad vencida.
- No intercambie los componentes de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit de reactivos se debe mezclar para volver a suspender las microperlas magnéticas que se asentaron durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre cómo mezclar microperlas magnéticas, consulte la sección Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, use guantes limpios cuando trabaje con un kit de reactivos y muestras.
- En el transcurso del tiempo, los líquidos residuales pueden secarse en la superficie septal. Estos son, generalmente, sales secas que no

tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.

- Para obtener un análisis detallado de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenamiento a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Apertura a entre 2 y 8 °C: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- En el sistema: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- Para asegurar el mejor rendimiento del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador después de la finalización de los trabajos de prueba intradía. Es posible seguir utilizando el kit después del período de apertura o en el sistema si los controles se encuentran dentro de los rangos esperados.
- Se debe mantener en posición vertical para el almacenamiento y para facilitar la posterior resuspensión adecuada de las microperlas magnéticas.
- Se debe mantener alejado de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza de forma automática cuando el kit se carga correctamente, de modo que las microperlas magnéticas se vuelvan a suspender totalmente de forma homogénea antes del uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

DILUCIÓN

La dilución de la muestra mediante el analizador no está disponible en este kit de reactivos.

Las muestras con concentraciones que estén por encima del rango de medición pueden diluirse manualmente. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Elija diluyentes aplicables o pida asesoramiento a SNIBE antes de la dilución manual.

LIMITACIONES

- Se requiere una técnica hábil y el cumplimiento estricto de las instrucciones para obtener resultados confiables.
- La contaminación bacteriana o la inactivación por calor de las muestras pueden afectar los resultados del examen.
- Un resultado dentro del rango esperado no descarta la presencia de la enfermedad y debe interpretarse junto con otros procedimientos de diagnóstico.
- Los resultados de la prueba se notifican cuantitativamente. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad no debe basarse en el resultado de una sola prueba, sino que debe determinarse en función de los hallazgos clínicos combinados con el criterio médico.
- Cualquier decisión terapéutica también debe tomarse caso por caso.
- Las muestras de los pacientes con anticuerpos humanos antirratón (HAMA, del inglés human anti-mouse antibodies) pueden mostrar un falso aumento o una falsa disminución de valores. Aunque se incorporan agentes neutralizantes de HAMA, las concentraciones de HAMA en suero extremadamente altas, en ocasiones, pueden influir en los resultados.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de HA de cada muestra mediante una curva de calibración que se genera con un procedimiento de curva principal de calibración de dos puntos. Los resultados se informan en unidades de ng/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

El rango esperado para el ensayo de HA se obtuvo mediante la realización de pruebas con 125 personas aparentemente sanas en China, y dio el siguiente valor esperado:

< 100 ng/ml (percentil 95).

Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en la población y el método de prueba. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo de HA se determinó como se describe en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, del inglés Clinical & Laboratory Standards Institute). Se probaron tres grupos de suero humano y un control con diferentes concentraciones de analito en duplicado en dos ejecuciones independientes por día durante 20 días de pruebas. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	Media (ng/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		SD (ng/ml)	% de CV	SD (ng/ml)	% de CV	SD (ng/ml)	% de CV
Grupo de suero 1	61,705	4,210	6,82	1,605	2,60	4,506	7,30
Grupo de suero 2	185,759	11,540	6,21	4,396	2,37	12,349	6,65
Grupo de suero 3	1026,529	27,556	2,68	30,143	2,94	40,841	3,98
Control	205,808	9,535	4,63	7,589	3,69	12,186	5,92

Límite de blanco (LoB)

El LoB del ensayo de HA es de 5,0 ng/ml.

Rango de medición

5,0-2000 ng/ml (se define por el límite de blanco y el límite superior de la curva principal). Los valores que están por debajo del límite de blanco se observan como < 5,0 ng/ml. Los valores que están por encima del rango de medición se observan como > 2000 ng/ml.

Comparación de métodos

Se realizaron pruebas a un total de 100 muestras en el rango de 5,161 y 1953,967 ng/ml mediante el ensayo de HA (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen como: $y=0,962x+1,4648$. $r^2=0,9843$.

Especificidad analítica

La especificidad del ensayo se obtuvo a través de la adición de laminina (1000 ng/ml) a dos muestras de suero con las concentraciones indicadas. No se encontraron interferencias.

Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 60 mg/dl
- Hemoglobina 2000 mg/dl
- Triglicérido 1250 mg/dl

REFERENCIAS

1. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB (1997). "Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover". J. Intern. Med. 242 (1): 27–33.
2. Stern R (2004). "Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway". Eur. J. Cell Biol. 83 (7): 317–25.
3. Sugahara K, Schwartz NB, Dorfman A (1979). "Biosynthesis of hyaluronic acid by Streptococcus" (PDF). J. Biol. Chem. 254 (14): 6252–6261.
4. Wessels MR, Moses AE, Goldberg JB, DiCesare TJ (1991). "Hyaluronic acid capsule is a virulence factor for mucoid group A streptococci" (PDF). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 88 (19): 8317–8321.
5. Schulz T, Schumacher U, Prehm P (2007). "Hyaluronan export by the ABC transporter MRP5 and its modulation by intracellular cGMP". J. Biol. Chem. 282 (29): 20999–1004.
6. Matou-Nasri S, Gaffney J, Kumar S, Slevin M (2009). "Oligosaccharides of hyaluronan induce angiogenesis through distinct CD44 and RHAMM-mediated signalling pathways involving Cdc2 and gamma-adducin". Int. J. Oncol. 35 (4): 761–773.
7. Tesar BM, Jiang D, Liang J, Palmer SM, Noble PW, Goldstein DR (2006). "The role of hyaluronan degradation products as innate alloimmune agonists". Am. J. Transplant. 6 (11): 2622–2635.
8. Wong VS, Hughes V, Trull A, Wight DG, Petrik J, et al. (1998) Serum Hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. J Viral Hepat 5: 187-192.
9. Schiff ER, Schiff L (1993) Needle biopsy of the liver. Diseases of the Liver. (7th edn), Lippincott Co, Philadelphia.
10. Montazeri G, Estakhri A, Mohamadnejad M, et al. Serum hyaluronate as a non-invasive marker of hepatic fibrosis and inflammation in HBeAg-negative chronic hepatitis B[J]. BMC gastroenterology, 2005, 5(1): 32.
11. Suzuki A, Angulo P, Lymp J, et al. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Liver International, 2005, 25(4): 779-786.
12. Tamaki S, Ueno T, Torimura T, et al. Evaluation of hyaluronic acid binding ability of hepatic sinusoidal endothelial cells in rats with liver cirrhosis[J]. Gastroenterology, 1996, 111(4): 1049-1057.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.23, Jinxiu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China

Tel.: +86-755-21536601 Fax: +86-755-28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany

Tel.: +49-40-2513175 Fax: +49-40-255726

EXPLICACIÓN DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Límite de temperatura (Almacenar a una temperatura de entre 2 y 8 °C)		Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para		Mantener alejado de la luz solar
	Este lado hacia arriba		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Componentes del kit
	Número de catálogo		Código de lote