

MAGLUMI[®] HBsAg (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cualitativa del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) 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

La hepatitis B es una enfermedad infecciosa causada por el virus de la hepatitis B (VHB) que afecta al hígado¹. Puede causar infecciones tanto agudas como crónicas¹. El virus de la hepatitis B (VHB) es un miembro de la familia Hepadnaviridae. La partícula del virus (virión) consta de una envoltura lipídica exterior y un núcleo constituido por una nucleocápside icosaédrica compuesta de proteína². El genoma del VHB está constituido de ADN circular, pero es poco común debido a que el ADN no es completamente bicatenario³. Se conocen cuatro genes codificados por el genoma denominados C, X, P y S. La proteína core se codifica mediante el gen C (HBcAg), y a su codón de inicio lo antecede un codón de inicio AUG estructural contracorriente a partir del cual se produce la proteína precore. El HBeAg se produce mediante un procesamiento proteolítico de la proteína precore. La polimerasa de ADN se codifica mediante el gen P. El gen S es el gen que codifica al antígeno de superficie (HBsAg)⁴. No se comprende totalmente la función de la proteína codificada por el gen X, pero se asocia con el desarrollo de cáncer hepático⁵. El diagnóstico de hepatitis B se basó en la detección de marcadores serológicos. El análisis de estos marcadores ayuda a determinar la presencia de infección del VHB anterior o en curso, la etapa aguda o crónica de la enfermedad, la respuesta a la terapia o el estado inmunitario del paciente^{6,7}. El HBsAg es el primer marcador serológico en aparecer y se puede detectar en el plazo de 1 a 2 semanas después de la exposición. Antecede a la aparición de síntomas en un promedio de 4 semanas. La presencia del HBsAg indica infección en curso⁸. Los ensayos de HBsAg se utilizan periódicamente para ayudar en el diagnóstico en que se sospecha de infección vírica de la hepatitis B (VHB) y para supervisar el estado de individuos infectados, es decir, si la infección del paciente se resolvió o si el paciente se convirtió en un portador crónico del virus⁹.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de HBsAg es un inmunoensayo de quimioluminiscencia tipo sándwich.

La muestra (o calibrador o control, si corresponde), el búfer y las microperlas magnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-HBs se mezclan completamente y se incuban, lo que forma complejos antígeno-anticuerpo. Después de la precipitación en un campo magnético, el sobrenadante se decanta y, luego, se realiza un ciclo de lavado. A continuación, se agrega aminobutiletisoluminol (ABEI) etiquetado con anticuerpo policlonal anti-HBs, y se incuba para formar complejos tipo sándwich. 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. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, del inglés relative light units), lo que indica la concentración de HBsAg presente en la muestra (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componentes	Contenido	100 pruebas (REF: 130210001M)	50 pruebas (REF: 130610001M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-HBs, con contenido de albúmina sérica bovina (BSA) y NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Con contenido de BSA y antígeno de superficie de hepatitis B (<i>E. coli</i> recombinante), y NaN ₃ (<0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Con contenido de BSA y antígeno de superficie de hepatitis B (<i>E. coli</i> recombinante), y NaN ₃ (<0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
Búfer	Con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 ml	7,5 ml
Marca de ABEI	Anticuerpo policlonal Anti-HBs etiquetado con ABEI, con contenido de BSA y NaN ₃ (<0,1 %).	22,5 ml	12,5 ml
Control de calidad interno	Con contenido de BSA y antígeno de superficie de hepatitis B (<i>E. coli</i> recombinante), y 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
Sustrato 1+2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.:130299005M
Solución Light Check	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 segunda norma internacional de la OMS 00/588.

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 controles 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 HBsAg (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

- Muestras séricas obtenidas con tubos de muestreo estándar o tubos con gel separador. Extraiga la sangre asépticamente luego de seguir las precauciones universales para la venopunción.
- Para obtener resultados óptimos, las muestras no deben contener fibrina, glóbulos rojos ni otros tipos de material particulado. Tales muestras pueden dar resultados incongruentes y se deben transferir a un tubo de centrifugación y centrifugarlas a una fuerza centrífuga relativa (RCF, del inglés relative centrifugal force) de $\geq 10\ 000$ durante 15 minutos.
- Asegúrese de que la formación completa de coágulos en las muestras de suero haya tenido lugar antes de la centrifugación. Algunas muestras de suero, en particular las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante, podrían tener un tiempo de coagulación mayor.
- Si la muestra sérica se centrifuga antes de que se complete la coagulación, la presencia de fibrina podría 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.
- 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 o controles) deben analizarse en un plazo de tres horas después de colocarlas en el sistema MAGLUMI. Consulte el servicio de SNIBE para obtener información más detallada sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- Las muestras extraídas del separador, los glóbulos rojos o el coágulo se pueden almacenar hasta durante 12 horas a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C, y se pueden almacenar hasta durante 30 días congeladas a una temperatura de -20 °C o menos.
- Evite congelar y descongelar las muestras reiteradamente. La muestra puede congelarse y descongelarse solo dos veces. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes del uso (mezclador Vortex). Las muestras congeladas deben mezclarse **COMPLETAMENTE** después de la descongelación por agitación a BAJA velocidad. Pida más información a su representante local de SNIBE si tiene alguna duda.
- Antes del envío de las muestras, se recomienda retirarlas de los glóbulos rojos, el coágulo o el separador. 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 HBsAg es de 100 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 el cuadro clínico del paciente y otros procedimientos de diagnóstico.
- 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 HBsAg de cada muestra mediante una curva de calibración que se genera con un procedimiento de curva principal de calibración de 2 puntos. Los resultados se expresan en index/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Factor de conversión: 1 IU/ml = 10 index/ml.

Interpretación de los resultados

Los resultados obtenidos con el ensayo de HBsAg se pueden interpretar de la siguiente manera:

- No reactivo: Un resultado inferior a 1 index/ml (<1 index/ml) se considera negativo.
- Reactivo: Un resultado mayor que o igual a 1 index/ml (≥ 1 index/ml) se considera positivo.

Todos los resultados del ensayo deben interpretarse en conjunto con la situación clínica del paciente, el historial y otros resultados de laboratorio. Todas las muestras inicialmente reactivas deben volver a determinarse por duplicado con el HBsAg. Si en ambos casos se observan valores de concentración <1 index/ml, las muestras se consideran negativas. Las muestras reiteradamente reactivas deben confirmarse según los algoritmos de confirmación recomendados.

Los resultados pueden variar debido a variaciones en la población. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos esperados.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo de HBsAg se determinó según lo descrito en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, del inglés Clinical & Laboratory Standards Institute). Se probó 1 control y 3 muestras 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 (index/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		SD (index/ml)	% de CV	SD (index/ml)	% de CV	SD (index/ml)	% de CV
Grupo de suero negativo	0,505	0,050	NA	0,039	NA	0,064	NA
Grupo de suero positivo 1	100,623	6,811	6,77	2,054	2,04	7,114	7,07
Grupo de suero positivo 2	350,605	9,466	2,70	6,666	1,90	11,578	3,30
Control	12,575	0,592	4,71	0,094	0,75	0,608	4,83

Nota: NA = No aplicable.

Sensibilidad analítica

<1 index/m.

El límite de detección representa el menor nivel de analitos que puede distinguirse de cero.

Especificidad

Se utilizaron muestras clínicas negativas de HBsAg, que contienen reactantes cruzados potenciales, entre los que se encuentran VHA, VIH, sífilis, IgG de VEB, CMV, IgG de rubeola, IgM de toxoplasmosis, VHS-1/2, RF, HAMA, ANA aprobados mediante el ensayo con marcado CE disponible en el mercado, para evaluar la reactividad cruzada del ensayo de HBsAg. De todos los reactantes cruzados potenciales, no se determinó que ninguno causara falsos positivos en el ensayo de HBsAg.

Recuperación

Considere un calibrador alto con concentración conocida como una muestra. Dilúyala con diluyentes en una proporción de 1:2 y mida su concentración diluida por 10 veces. A continuación, calcule la concentración esperada y la recuperación de la concentración medida. La recuperación debe estar dentro del 90 % al 110 %.

Valor previsto	Medición media	(%)Recuperación
1581,140 index/ml	1563,755 index/ml	98,9

Sensibilidad clínica

Una cantidad de 434 muestras son de pacientes infectados con el VHB con diferentes etapas de la enfermedad. Los datos del estudio se resumen en la siguiente tabla.

Grupo	N	Reactivo	Confirmado como positivo
HBsAg positivo no especificado	111	110	110
HBsAg positivo con genotipo	120	120	120
HBsAg positivo de subtipo	173	173	173
HBsAg mutantes	30	30	30

Especificidad clínica

En un grupo de donantes de sangre seleccionados al azar y pacientes hospitalizados, la especificidad del ensayo de HBsAg resultó ser del 99,96 %.

Grupo	N	Reactivo	Noreactivo	Confirmado como positivo
Donantes no seleccionados	5052	2	5050	0
Pacientes hospitalizados	200	0	200	0
Total	5252	2	5250	0

Detección de HBsAg mutante

Con el ensayo de HBsAg, se evaluó la susceptibilidad del HBsAg mutante. El HBsAg mutante con mayor prevalencia, el Gly→Arg 145 mutante (mutación de glicina [GLY] en arginina [ARG] en la posición 145 de aminoácido de HBsAg), se detectó inmediatamente con una sensibilidad equivalente a la detección de HBsAg natural.

Interferencia endógena

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

- Bilirrubina 40 mg/dl
- Triglicéridos 2000 mg/dl
- Hemoglobina 1000 mg/dl

REFERENCIAS

1. "Hepatitis B Fact sheet ".World Health Organization. July 2014. Archived from the original on 9 November 2014. Retrieved 4 November 2014.
2. Zuckerman AJ (1996). "Hepatitis Viruses". In Baron S; et al. Baron's Medical Microbiology (4th ed.). University of Texas Medical Branch. ISBN 0-9631172-1-1. Archived from the original on 14 July 2009.
3. Kay A, Zoulim F (2007). "Hepatitis B virus genetic variability and evolution". *Virus research*. 127 (2): 164–176.
4. Buti M, Rodríguez-Frias F, Jardí R, Esteban R (December 2005). "Hepatitis B virus genome variability and disease progression: the impact of pre-core mutants and HBV genotypes". *Journal of Clinical Virology*. 34 Suppl 1: S79–82.
5. Li W, Miao X, Qi Z, Zeng W, Liang J, Liang Z (2010). "Hepatitis B virus X protein upregulates HSP90alpha expression via activation of c-Myc in human hepatocarcinoma cell line, HepG2". *Virology*. 405: 45–52.
6. G. DUSHEIKO, J.H. HOOFNAGLE Hepatitis B. In: Oxford Textbook of Clinical Hepatology, N. McIntyre et al. eds., Oxford University Press, p. 571-577 (1991).
7. M.R. ESCOBAR Chronic viral hepatitis. In: Clinical Virology Manual, S. Specter, G.J. Lancz eds., Elsevier, New York, p. 329-348 (1986).
8. Hoofnagle J, Seef L, Bales Z, et al. Serologic responses in hepatitis B. In: Vyas GN, Cohen SN, Schmidt R, editors. *Viral Hepatitis: A Contemporary Assessment of Etiology, Epidemiology, Pathogenesis and Prevention*. Philadelphia: Franklin Institute Press; 1978. p. 278.
9. Perrillo RP, Aach RD. The clinical course and chronic sequelae of hepatitis B virus infection. *Seminars in Liver Disease* 1981;1:15-25.



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

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		Componentes del kit
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Código de lote
	Número de catálogo		