

MAGLUMI[®] Anti-VHC (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cualitativa de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (anti-VHC) en suero o plasma 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 virus de la hepatitis C (VHC) es un pequeño virus ARN monocatenario positivo, de entre 55 nm y 65 nm que pertenece a la familia Flaviviridae. El genoma, con una longitud de 9600 nucleótidos, codifica a un péptido grande de 3000 aminoácidos que se procesa para producir pequeñas proteínas activas. El VHC tiene un ARN genómico monocatenario positivo que codifica a una sola poliproteína, la que se divide, por acción de proteasas víricas y celulares, en 10 proteínas diferentes: core, E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B. Las proteínas no estructurales NS3 a NS5B participan en la replicación del genoma vírico, mientras que las proteínas estructurales (core, E1 y E2) son los componentes de la partícula vírica. Las otras proteínas, p7 y NS2, son prescindibles para la replicación del ARN y no existe evidencia de que formen parte de la partícula vírica¹⁻⁴.

Tanto las proteínas core como las NS se utilizan en el diagnóstico serológico del VHC. En función de diferencias genéticas, el VHC se divide en siete genotipos con varios subtipos que presentan divergencia intergrupala de casi un 30 %. Posteriormente, los subtipos se descomponen en cuasiespecies o enjambres de virus con parentesco cercano, pero diferentes. La infección con un genotipo no confiere inmunidad contra otros genotipos y existe la posibilidad de que se produzca infección concurrente por dos cepas. Aproximadamente un 60 % de las personas infectadas en todo el mundo pertenecen a los subtipos 1a y 1b^{5,6,8}.

La infección del VHC es un problema importante de la salud pública y es la causa principal de hepatopatía crónica. Se estima que la prevalencia mundial de la infección del VHC es de aproximadamente un 3 %, lo que corresponde a 170 000 000 de personas. Se prevé que la mortalidad de la infección del VHC aumente en el corto plazo. El período de incubación del VHC tiene una amplia variación de entre 2 y 26 semanas. Solamente pocos pacientes con VHC pueden resolver la infección. Aproximadamente entre el 75 % y el 85 % de los individuos que padecen infección aguda por VHC presenta hepatitis crónica; entre el 20 % y el 30 % de los portadores crónicos presenta cirrosis hepática^{7,8}. El VHC se encuentra en el suero de los pacientes durante la infección aguda y crónica. Se transmite por inoculación percutánea directa de sangre o hemoderivados y también mediante contacto físico cercano con portadores del virus, presuntamente debido al paso de fluidos corporales a través de fisuras cutáneas, o a través de la membrana genital u oral. Se utilizan pruebas serológicas como inmunoensayo de enzimas (EIA), ELISA e inmunoensayos de quimioluminiscencia que detectan anticuerpos específicos contra el VHC (anti-VHC) para detectar infección del VHC⁸.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de anti-VHC es un inmunoensayo de quimioluminiscencia tipo sándwich.

La muestra (o calibrador o control, si corresponde), el antígeno del VHC recombinante etiquetado con FITC y el antígeno del VHC recombinante biotinilado reaccionan para formar un complejo tipo sándwich. Después de la adición de anticuerpo monoclonal de oveja anti-FITC etiquetado con ABEI y microperlas magnéticas recubiertas con estreptavidina, el complejo se une a la fase sólida a través de la interacción de biotina y estreptavidina. Después de la precipitación en un campo magnético, el sobrenadante se decanta y, luego, se realiza un 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 anti-VHC presente en la muestra (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componente	Contenido	100 pruebas (REF: 130210006M)	50 pruebas (REF: 130610006M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas con estreptavidina, con contenido de BSA y NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Con contenido de BSA, anti-VHC y NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Con contenido de BSA, anti-VHC y NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Antígenos mezclados	Antígenos biotinilados, antígeno VHC-Core+NS3+ NS4+NS5 etiquetado con FITC y NaN ₃ (<0,1 %).	12,5 ml	7,5 ml
Marca de ABEI	Anticuerpo policlonal de oveja anti-FITC etiquetado con ABEI, con contenido de BSA y NaN ₃ (<0,1 %).	12,5 ml	7,5 ml
Control de calidad interno	Con contenido de BSA, anti-VHC 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 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 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 la **Información de control de calidad de anti-VHC (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, se necesitan materiales de control de calidad (control positivo y negativo). Trate todas las muestras de control de calidad con el mismo cuidado que las muestras del paciente. Cuando sea necesario, se debe repetir la medición de control de calidad. Se logra un nivel satisfactorio de rendimiento cuando los valores de análisis 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 su distribuidor o proveedor de soporte técnico local para obtener asistencia.

PREPARACIÓN Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

- Se pueden utilizar muestras de suero o plasma humano con el ensayo. Muestras séricas obtenidas con tubos de muestreo estándar o tubos con gel separador. Para las muestras de plasma, se analizaron los anticoagulantes citrato sódico, K2-EDTA, K3-EDTA, heparina de litio, heparina de sodio, ACD-B, CPD, CPDA y oxalato de potasio/NaF, por lo que se pueden utilizar en este ensayo.
- 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 utilice muestras muy hemolizadas ni inactivadas con calor. Inspeccione todas las muestras para detectar burbujas. Elimine las burbujas con un aplicador antes del análisis. Para evitar la contaminación cruzada, utilice un aplicador nuevo para cada muestra.
- Todas las muestras (muestras de pacientes o controles) se deben analizar en un plazo de 3 horas después de colocarlas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio de SNIBE para obtener instrucciones más detalladas sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- Las muestras extraídas del separador de gel, los glóbulos rojos o el coágulo se pueden almacenar hasta durante 7 días a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. Las muestras se pueden almacenar congeladas durante 3 meses 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 congeladas deben mezclarse completamente después de la descongelación por agitación a baja velocidad.
- Antes del envío de las muestras, se recomienda retirarlas del separador, 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 se deben enviar congeladas (nieve carbónica).
- El volumen de muestra necesario para una sola determinación de anti-VHC es de 20 μ l.

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 desecharse 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 una muestra.
- 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

- Esta prueba es adecuada solo para muestras individuales en investigación, no para grupos de muestras ni para muestras inactivadas con calor.
- Los resultados del ensayo se deben utilizar en conjunción con otros métodos clínicos y de laboratorio para ayudar en al médico en la toma de decisiones de diagnóstico de pacientes individuales.
- Se prevé que surjan falsos positivos con cualquier kit. La proporción de estas muestras con falsos positivos depende de la especificada del kit de prueba, de la integridad de la muestra y de la prevalencia de anticuerpos contra el VHC en la población analizada.
- Si los resultados de anti-VHC son incongruentes y con evidencia clínica, se sugiere realizar una prueba adicional para confirmar el resultado.
- La contaminación bacteriana o ciclos reiterados de congelación y descongelación pueden afectar los resultados de las pruebas.
- La presencia de anticuerpos heterófilos en las muestras de ensayo puede causar interferencia en los inmunoensayos.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

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

Interpretación de los resultados

Los resultados obtenidos con el ensayo de anti-VHC se pueden interpretar de la siguiente manera:

- No reactivo: Un resultado inferior a 20 AU/ml (<20 AU/ml) se considera negativo.
- Reactivo: Un resultado mayor o igual a 20 AU/ml (≥20 AU/ml) se considera positivo.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo de anti-VHC se evaluó en conformidad con en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, del inglés Clinical & Laboratory Standards Institute). Se probaron un control y tres grupos de suero humano con diferentes concentraciones de analito en duplicado en dos ejecuciones independientes por día durante 20 días de pruebas. El resultado se resume en la siguiente tabla:

Muestra	Media (AU/ml) (N=80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		SD (AU/ml)	% de CV	SD (AU/ml)	% de CV	SD (AU/ml)	% de CV
Grupo de suero positivo bajo	55,514	2,650	4,77	3,669	6,61	4,526	8,15
Grupo de suero moderadamente positivo	198,979	5,599	2,81	12,006	6,03	13,248	6,66
Grupo de suero positivo alto	598,713	17,686	2,95	19,593	3,27	26,395	4,41
Control positivo	40,025	1,562	3,90	1,831	4,57	2,406	6,01

Sensibilidad analítica

<2 AU/ml.

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

Especificidad analítica

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

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
281,083 AU/ml	269,423 AU/ml	95,9

Sensibilidad clínica

Una cantidad de 400 muestras de pacientes infectados con el VHC, en distintas etapas de la enfermedad e infectados con genotipos distintos del VHC (tipo 1, 2, 3, 4, 5 y 6). La sensibilidad resultante de las muestras positivas confirmadas es del 100 %. Los datos del estudio se resumen en la siguiente tabla.

Grupo	N	Reactivo
Personas infectadas con el VHC en distintas etapas de la enfermedad	274	274
Genotipos del VHC (tipo 1, 2, 3, 4, 5, 6)	126	126

Especificidad clínica

En un grupo de donantes de sangre seleccionados al azar, pacientes hospitalizados y muestras de sangre con potencial reactividad cruzada, la especificidad del ensayo de anti-VHC resultó ser del 99,8 %.

Grupo	N	Inicialmente reactivo	Noreactivo	Repetidamente reactivo
Donantes no seleccionados	5053	10	5043	10
Pacientes hospitalizados	200	0	200	0
Muestras de sangre con potencial reactividad cruzada (RF+, virus relacionados, mujeres embarazadas, etc.)	100	0	100	0
Total	5353	10	5343	10

Sensibilidad de la seroconversión

Se evaluó la capacidad del ensayo de anti-VHC para detectar anti-VHC mediante el análisis de 19 paneles de seroconversión del VHC de donantes de plasma y suero que presentaron seroconversión durante el curso de su historial de donación. Los paneles también se analizaron mediante un ensayo aprobado. El ensayo de anti-VHC detectó anti-VHC entre 3 y 5 días (una muestra) antes que el ensayo comparador en 2 de los 19 paneles. El ensayo comparador detectó anti-VHC 3 días (un sangrado) antes que el ensayo de anti-VHC en 2 de los 19 paneles. Ambos ensayos presentaron una detección equivalente de anti-VHC en 15 de los 19 paneles.

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. Lindenbach BD, Thiel HJ, Rice CM (2007) Flaviviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, editors. Fields Virology. 5th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins. pp. 1101–1152.
2. Moradpour D, Penin F, Rice CM (2007) Replication of hepatitis C virus. Nat Rev Microbiol 5: 453–463.
3. Blight KJ, McKeating JA, Rice CM (2002) Highly permissive cell lines for subgenomic and genomic hepatitis C virus RNA replication.
4. Lohmann V, Körner F, Koch J-O, Herian U, Theilmann L, et al. (1999) Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. Science 285: 110–113.
5. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. Hepatology. 2014;59:318–27.
6. Rao H, Wei L, Lopez-Talavera JC, Shang J, Chen H, Li J, et al. Distribution and clinical correlates of viral and host genotypes in Chinese patients with chronic hepatitis C virus infection. J GastroenterolHepatol. 2014;29(3):545–53.
7. Antonelli A, Ferri C, Galeazzi M, et al. HCV infection: pathogenesis, clinical manifestations and therapy. ClinExp Rheumatol 2008; 26:S39–47.
8. David Wild, Rhys J, Chris S, et al. The Immunoassay Handbook: Theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques, fourth edition. 2013, part 9:907-909.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.
 No.23, Jinxu 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		Componente del kit
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Código de lote
	Número de catálogo		