

# Inmunoensayo










**REF** CMN0201/CMN0202/CMN0203



**50 pruebas/100 pruebas/200 pruebas**

## P-AFP CLIA Micropartículas

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) para la determinación cuantitativa de P-AFP (alfa fetoproteína del embarazo) en suero humano.

Todas las marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

Clave de los símbolos gráficos utilizados			
	Código de lote		Uso para
	fabricante		Contenido suficiente para <n> pruebas
	dispositivo medico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Límite de temperatura
	Número de catálogo		Consulte instrucciones de uso
	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](mailto:customerservice@autobio.com.cn)

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

## Introducción

El kit P-AFP es para la determinación cuantitativa de la alfafetoproteína del embarazo (P-AFP) en el suero materno.

La AFP es una glicoproteína de 591 aminoácidos y una fracción de carbohidrato, el peso molecular es 38000 Da [1]. La AFP es una proteína plasmática importante producida por el saco vitelino y el hígado durante el desarrollo fetal[2]. En mujeres embarazadas, los niveles de AFP fetal se pueden controlar en la orina. Desde la décima semana de gestación se puede medir la AFP en la sangre materna, la concentración de AFP aumentó linealmente a las 11 ~ 20 semanas de gestación y alcanzó el pico hasta aproximadamente las 32 ~ 34 semanas, luego disminuyó gradualmente después del parto a niveles normales [3].

La AFP se puede utilizar como indicador de detección de defectos del tubo neural. Además, la detección de AFP en suero materno también se puede utilizar para partos múltiples, síndrome de trisomía 18 y otros diagnósticos auxiliares.

## Principio de medición

Este ensayo se basa en el método sándwich de dos pasos. En el primer paso, se añaden la muestra y las micropartículas recubiertas de anticuerpo P-AFP. Durante la incubación, la P-AFP presente en la muestra se une a los anticuerpos que recubren las micropartículas, después del lavado, en el segundo paso, los antígenos P-AFP capturados en las micropartículas se dejan reaccionar con los anticuerpos ligados a enzimas. Después del segundo lavado, se genera un complejo entre las micropartículas, el antígeno P-AFP dentro de la muestra y los anticuerpos ligados a enzimas por reacciones inmunológicas. A continuación, se añade el sustrato quimioluminiscente y este complejo lo cataliza, lo que da como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. El RLU es proporcional a la concentración de P-AFP en la muestra del paciente.

## Materiales suministrados


### 1. Calibradores

6 viales que contienen cada uno 1.0 ml de calibrador A a F con diferentes concentraciones de antígeno P-AFP. La matriz es un tampón PBS que contiene caseína. Contiene conservante ProClin 300®.

Calibradores proporcionados listos para usar.

Calibrador	Concentración P-AFP (ng/ml)
A	0
B	5
C	20
D	50
2. Paquete de reactivos	200

El paquete de reactivos se proporciona listo para usar.

	50	100	200
			
Solución de micropartículas	1.2 ml	2.3 ml	4.3 ml
Conjugado de enzimas	5.5 ml	11.0 ml	21.0 ml

### • Solución de micropartículas

1 vial que contiene micropartículas recubiertas de anticuerpo P-AFP en tampón Tris-HCl que contiene BSA. Contiene ProClin 300® y conservante de azida de sodio.

### • Conjugado de enzimas

1 vial que contiene anticuerpo P-AFP marcado con peroxidasa de rábano picante en tampón Tris-NaCl que contiene BSA (albúmina de suero bovino) y suero bovino recién nacido. Contiene conservante ProClin 300®.

## Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

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

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en analizadores de ensayo que son AutoLumo A2000 Plus, AutoLumo A2000 Plus B y AutoLumo A1000.

## Materiales requeridos pero no suministrados

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

## Trazabilidad metrológica de los calibradores

El mensurando o analito en estos calibradores P-AFP es trazable a un calibrador comprado en NICPBP (Instituto Nacional para el Control de Productos Farmacéuticos y Biológicos), China, en cada nivel de concentración.

## Advertencias y precauciones

Información de salud y seguridad

Para calibradores, solución de micropartículas y conjugado enzimático, que contienen 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona y 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, se aplican las siguientes declaraciones

H315 Provoca irritación cutánea.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos duraderos

P261 Evite respirar el polvo/humo/gas/niebla/vapores/aerosoles.

P280 se guantes de protección/ropa protectora/protección para los ojos/protección para la cara.

P273 Evítese su liberación al medio ambiente

P305+P351+P338 N CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentes de contacto, si lleva y es fácil de hacer. Continúe enjuagando.

P321 Tratamiento específico (ver en esta etiqueta).

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con las regulaciones locales/regionales/nacionales/internacionales.



GHS 07  
Advertencia

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 potencialmente contaminados de forma segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. PRECAUCIÓN: los calibradores contienen material de origen humano, que ha sido probado y no reactivo para HBsAg, VIH-1 y VIH-2, VHC 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 proceden de países donde no se ha informado de encefalopatía espongiiforme bovina (EEB).

6. Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel, que debe evitarse si entra en contacto con la piel. Este material y su recipiente deben eliminarse de forma segura. En caso de ingestión, consulte con un médico inmediatamente y muestre este envase o etiqueta.
7. No fume, beba, coma ni use cosméticos en el área de trabajo.
8. Utilice ropa protectora y guantes desechables cuando manipule muestras y reactivos. Lávese las manos después de las operaciones.
9. Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipeta desechables.
10. 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.
11. No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
12. Al almacenar los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
13. Asegúrese de que las micropartículas se vuelvan a suspender antes de cargarlas en el analizador.
14. Evite la formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
15. No sustituya ningún reactivo de este kit de otros fabricantes u otros lotes.
16. Cuando se observe algún daño en el embalaje protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico, no utilice el kit.
17. No utilice reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

## Almacenamiento

1. Guarde el kit a 2-8 °C. No congelar. Evite la luz fuerte.
2. La fecha de caducidad se muestra en la etiqueta del envase.
3. Almacene el paquete de reactivo en posición vertical a 2-8 °C en el analizador. De lo contrario, refrigere a 2-8 °C durante un mínimo de 2 horas antes de usar en el analizador.
4. El paquete de reactivos puede almacenarse dentro o fuera del analizador. Pueden almacenarse a bordo del analizador 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 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 asegurarse de que permanezcan en posición vertical. Selle y devuelva los calibradores no utilizados a 2-8 °C, en cuyo caso la estabilidad se mantendrá durante 1 mes, para un uso más prolongado, almacene los calibradores abiertos en alícuotas y congele a -20 °C. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación.

## 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. 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.
4. Antes del envío, se recomienda que las muestras se extraigan del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
5. Un procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte pueden causar resultados deprimidos.
6. Evite las muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
7. Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8

- horas; para un uso prolongado, las muestras deben taparse y almacenarse a 2-8 °C hasta 48 horas. O congele las muestras que necesiten ser almacenadas o transportadas por más de 48 horas a -20 °C. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas agitando con vórtex 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.
8. 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.
9. Tenga en cuenta que pueden estar presentes niveles interferentes de fibrina en muestras que no tienen partículas obvias o visibles.
10. 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 deben ser suficientes para eliminar las partículas.

## 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. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.
  - 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.
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
3. Solicitar pruebas
  - Coloque los tubos de muestra en el portamuestras, 25 µl de muestras y calibradores para cada prueba. Pero teniendo en cuenta el recipiente de la muestra y los 150 µl de los volúmenes muertos del sistema, que pueden consultarse en los manuales del analizador de ensayo correspondientes para conocer el volumen mínimo de muestra requerido.
  - Cargue el portamuestras e introduzca la información de la muestra en la interfaz del software del sistema.
  - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador realiza automáticamente la operación de prueba. El analizador 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 el conjugado enzimático al recipiente de reacción
    - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción
    - Agrega sustrato quimioluminiscente
    - Mide la emisión quimioluminiscente para determinar la cantidad de P-AFP en la muestra
    - Desecha el recipiente de reacción usado
    - Calcula el resultado
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
4. Calibrar 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 tubos de muestra y coloque los tubos de

muestra en el portamuestras. Realizar detección de duplicados en el sistema.

- Cargue el portamuestras 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.
- 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 una solución de sustrato con un nuevo código de lote
  - Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
  - Se reemplazan o reparan piezas importantes del analizador
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

#### 5. Diluir la muestra

Las muestras con un valor de P-AFP superior a 500 ng/ml pueden diluirse con el método de dilución automático. Diluyente Universal se utiliza para diluir las muestras.

- Para esta prueba de P-AFP, la dilución recomendada es 1:30.
- Cuando diluya las muestras con Diluyente Universal manualmente, multiplique el resultado de la detección por el factor de dilución para obtener el resultado final.
- La concentración de la muestra después de la dilución no debe ser inferior a 10 ng / ml.

## Resultados de medición

Los resultados de la prueba de muestra son determinados automáticamente por el software del sistema utilizando un método de reducción de datos de ajuste de curva logística de 4 parámetros. La cantidad de antígeno P-AFP en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida mediante los datos de calibración almacenados. Los resultados de las pruebas de muestra se pueden revisar utilizando la pantalla adecuada. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos sobre cómo revisar los resultados de las muestras.

La unidad predeterminada para este ensayo es ng / ml.

## Procedimiento de control

El requisito de control recomendado para este ensayo es comprar los materiales de control por separado y analizarlos junto con las muestras dentro de la misma serie. El resultado es válido si los valores de control caen dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas. 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 que sea necesario realizar 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. Realice este ensayo junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y otros resultados de la prueba.
4. Las muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias pueden dar como resultado resultados de prueba incorrectos; evite el uso de tales muestras.
5. El cálculo preciso de las semanas gestacionales puede obtener resultados precisos de la evaluación del riesgo.
6. Las diferentes poblaciones pueden tener una mediana diferente, la

tasa de detección de embarazos anormales puede variar según el número de muestras.

7. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 5-500 ng / ml. Si las concentraciones de P-AFP están por encima del rango de medición esperado, se recomienda diluir las muestras con Diluyente Universal, la dilución máxima es 1:30 de esta prueba, lo que permite cuantificar las muestras hasta aproximadamente 15000 ng/ml.

## Intervalo biológico de referencia

Se examinaron un total de 1324 muestras de mujeres embarazadas normales. La mediana de P-AFP en mujeres embarazadas se enumeró a continuación:

Semanas Gestacionales	N	Mediana (ng/ml)
14	121	30.18
15	253	34.75
16	359	40.02
17	234	46.10
18	156	53.10
19	102	61.16
20	99	70.45

Nota: 1 ng / ml = 0,826 UI / ml.

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. Precisión de medición

Este ensayo está diseñado para tener una precisión dentro de una serie de <10%. Se analizaron 2 miembros del panel combinados a base de suero humano (1 y 2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembro panel	Lote	n	Media	Precisión intra corrida SD %CV
1	1	10	19.24	0.25 1.89
2	1	10	103.04	1.85 1.79

Este ensayo está diseñado para tener una precisión entre análisis de <15%. Se ensayaron 2 miembros del panel combinados a base de suero humano (1 y 2), usando 2 lotes de reactivos. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembro Panel	Lote	n	Media	Precisión entre corridas SD %CV
1	1	20	19.56	0.262 1.34
2	1	20	107.24	2.288 2.13

### 2. Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica, definida como la concentración correspondiente a las RLU medias de 20 réplicas del calibrador A más 2 desviaciones estándar, es ≤ 0,5 ng/ml.

### 3. Especificidad analítica

Se analizaron las sustancias enumeradas a continuación, a los niveles de concentración enumerados.

Sustancia	Concentración	Resultado de reactividad cruzada
HSA	500 ng/ml	No cross reactivity

Interferencia: Sin interferencia con 500 mg / dl de hemoglobina, 65 mg / dl de bilirrubina y 1000 mg / dl de triglicéridos.

#### 4. Exactitud de la medición por correlación

Se realizó un estudio de comparación en el que las muestras se analizaron utilizando este ensayo y un ensayo de referencia de P-AFP. Los datos fueron analizados y resumidos en la siguiente tabla.

Método de correlación	Número de muestras	Intercepto	Pendiente	Coefficiente de correlación
Regresión lineal	478	-56.683	0.9858	0.953

#### 5. Efecto gancho de dosis alta

na muestra enriquecida con P-AFP hasta 100000 ng / ml da un valor de RLU más alto que el último punto de calibrador.

### Literatura de referencia

1. Mackiewicz. A, Breborowicz. I, Thein-vitro production of Al-pha-fetoprotein variants by human fetal organs. Oncodev[J]. Biol. Med. 1:251, 1980.
2. Gitlin, D. Normal biology of alpha-fetoprotein[J]. Ann. N. Y. Acad. Sci.1975: 259. 7- 16.
3. Cuckle, H. Established markers in second trimester maternal serum[J]. Early Human Development, 1997: 47 Suppl., pp. 27-29.
4. Cuckle, H.,Wald, N. and Thompson, S. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level[J]. Br. J .Obstet. Gynaecol.1987 : 94. 387-420.
5. Second Report of UK Collaborative Study on Alpha-fetoprotein in Relation to Neural-Tube Defects: Amniotic fluid alpha-fetoprotein measurement in antenatal diagnosis of anencephaly and open spina bifida in early pregnancy[J].1979: Lancet 2. 651-661.
6. Ryyänen. M. et al. Antenatal screening for congenital nephrosis in finland by maternal serum alpha-fetoprotein[J]. Br. J. Obstet. Gynaecol. 1983: 90.437-442.