

Anti-HBe

Anticorpo contra o antígeno e da hepatite B (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
Anti-HBe111	2 ×50 testes
Anti-HBe112	2 ×100 testes

Uso pretendido

O ensaio de anti-HBe da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação qualitativa de anticorpo contra o antígeno e do vírus da hepatite B (anti-HBe) sérico ou plasmático humano.

Resumo

O antígeno e da hepatite B (HBeAg) é um produto de clivagem de proteína pré-núcleo codificada pelo gene pré-C/C do vírus da hepatite B (HBV)¹. HBeAg e seus anticorpos (anti-HBe) são comumente encontrados na infecção por HBV. Após a infecção por HBV, o HBeAg aumenta drasticamente depois do aparecimento de HBsAg, o que indica a reprodução ativa de HBV. A soroconversão a partir de HBeAg em anti-HBe geralmente é indicativa de recuperação de infecção aguda com um nível reduzido de infecciosidade. Um resultado de HBeAg negativo pode ocorrer no início da infecção aguda, antes do pico de replicação viral ou durante a convalescença precoce quando o HBeAg diminuiu abaixo de níveis detectáveis. A medição de anti-HBe pode distinguir entre essas duas fases. Um subconjunto de pacientes com hepatite B é sorologicamente negativo para HBeAg, mas positivo para anti-HBe. Esses pacientes também podem ser positivos para o nível sérico de DNA do vírus da hepatite B².

Princípios do ensaio

O ensaio de anti-HBe da série CL é um ensaio de ligação competitiva para determinar o nível de anticorpo contra o antígeno e da hepatite B.

Na primeira etapa, a amostra, a solução de tratamento de amostra e o reagente neutralizante são condicionados em um frasco de reação. Após a incubação, o anti-HBe na amostra se ligará ao HBeAg recombinante (rHBeAg) do reagente de neutralização.

Na segunda etapa, micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpos monoclonais de anti-HBe específicos (camundongo) e outro conjugado de anticorpo monoclonal de anti-HBe identificado como fosfatase alcalina (ALP) (camundongo) são condicionados no frasco de reação. Após a incubação, o rHBeAg circulante se liga ao anticorpo monoclonal de anti-HBe revestido com micropartículas e outro anticorpo monoclonal de anti-HBe identificado com ALP para formar um complexo: (micropartícula - Anti-HBe mAb)-rHBeAg-(Anti-HBe mAb-ALP). As micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são

removidas por lavagem.

Na terceira etapa, a solução do substrato é adicionada ao frasco de reação. O substrato é catalisado pela ALP no complexo imunológico capturado em micropartículas. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades de luz relativas (RLUs) por um fotomultiplicador integrado no sistema. Há uma relação direta entre a quantidade de anti-HBe na amostra e as RLUs geradas durante a reação.

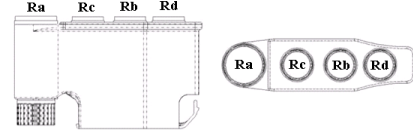
A presença ou ausência de anti-HBe na amostra é determinada pela comparação do sinal quimioluminescente na reação com o sinal de corte determinado pela calibração do sistema. Se o sinal quimioluminescente da reação for menor do que o sinal de corte ($COI \leq 1,0$), a amostra será considerada reativa para anti-HBe. Se o sinal de quimioluminescência da reação for maior do que o sinal de corte ($COI > 1,0$), a amostra será considerada não reativa para anti-HBe.

Componentes reagentes

O kit de reagentes é composto por quatro componentes: Ra, Rb, Rc e Rd. O componente não pode ser trocado, e as informações detalhadas de cada componente são listadas abaixo:

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com o anticorpo monoclonal anti-HBe (IgG de camundongo) no tampão TRIS com conservante.
Rb	Fosfatase alcalina identificada como anticorpo monoclonal anti-HBe (IgG do camundongo) no diluente com conservante.
Rc	HBeAg recombinante (rHBeAg) no tampão TRIS com conservante.
Rd	Solução de tratamento de amostra com conservante.

A posição de cada componente é mostrada na figura abaixo (vista frontal à esquerda e vista superior à direita):



Estabilidade de armazenamento

O reagente anti-HBe (CLIA) fechado fica estável até a data de vencimento indicada no rótulo quando armazenado em temperaturas entre 2 °C e 8 °C. A data de validade real é indicada no rótulo.

O reagente de anti-HBe (CLIA) pode ser armazenado onboard a temperaturas entre 2 °C e 8 °C e usado por no máximo 28 dias após a abertura.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Rc: Pronto para usar

Rd: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Cat. N° Anti-HBe211: Calibradores de anti-HBe, 1 × 2,0 mL para cada nível de calibrador C0 e C1

Cat. N° Anti-HBeN311: Controle negativo anti-HBe, 3×2,0 mL

Cat. N° Anti-HBeN312: Controle negativo anti-HBe, 6×2,0 mL

Cat. N° Anti-HBeP311: Controle positivo anti-HBe, 3×2,0 mL

Cat. N° Anti-HBeP312: Controle positivo anti-HBe, 6×2,0 mL

Cat. N° CS511: Solução de substrato, 4 × 115 mL

Cat. N° WB411: Tampão de lavagem

Frasco de reação

Sistema do equipamento

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Coleta e preparação do espécime

O soro humano é recomendável para este ensaio. Centrifugue as amostras a 3.500 rpm por no mínimo 10 minutos após a formação do coágulo ser concluída. As amostras devem ser testadas assim que possível após a coleta da amostra e o tratamento pré-analítico. Teste as amostras dentro de duas horas após a centrifugação. Caso o teste não seja concluído em 24 horas, transfira o sobrenadante para tubos para armazenamento. As amostras deverão ser fechadas e refrigeradas entre 2 °C e 8 °C. Se os testes forem ser atrasados por mais de sete dias, as amostras deverão ser congeladas a temperatura de -20°C ou inferior.

Evite ciclos repetidos de congelamento e descongelamento, que podem deteriorar a amostra. A amostra pode ser usada depois de, no máximo, cinco ciclos de congelamento e descongelamento.

Não use a amostra com as seguintes condições:

- Inativada por calor
- Maciçamente hemolisada
- Com contaminação microbiana evidente
- Com fibrina ou outros resíduos visíveis

Procedimento do ensaio

Para obter o procedimento de ensaio ideal, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com atenção, para obter informações suficientes, como instruções de operação, preservação e administração da amostra, precauções de segurança e manutenção. Prepare todos os materiais necessários para o ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagentes de anti-HBe no instrumento pela primeira vez, inverta o frasco

fechado do reagente suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspensão das micropartículas, que se acomodaram durante a remessa ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas estão em suspensão de novo. Se as micropartículas permanecerem coladas no frasco, continue invertendo até que elas sejam totalmente ressuspensas. Se não for possível homogeneizar as micropartículas de novo, é recomendável não usar esse frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda. Não inverta o frasco do reagente aberto.

Este ensaio requer 50 µL de volume de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do contêiner da amostra. Um volume adicional é necessário ao realizar mais testes da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e o requisito específico do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

Calibração

As informações de calibração são armazenadas no código de barras anexado no pacote de reagente e calibrador. Ao realizar a calibração, verifique as informações dos códigos de barras no sistema primeiro, e depois teste os calibradores em dois níveis. É necessário calibrar antes de qualquer teste de anti-HBe. A recalibração é recomendável a cada 4 semanas ou quando um novo lote de reagente é usado, ou os controles de qualidade estão fora do intervalo especificado. Para obter instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operação do sistema.

Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada aos requisitos individuais de cada laboratório.

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora do intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras precisarão ser retestadas. Talvez seja necessário recalibrar. Consulte o manual de operação do sistema para verificar o sistema. Se os resultados do controle de qualidade ainda estiverem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda.

Cálculo

O analisador da série CL calcula a média do sinal de RLU a partir dos testes duplicados do calibrador C0 e C1. O resultado de anti-HBe se baseia na razão entre a média de RLU e o RLU do ponto de corte de cada amostra (Índice de corte, COI)

RLU de corte= RLU média de C0 - [(RLU média de C0 - RLU média de C1) x coeficiente de calibração]

O coeficiente de calibração é específico para cada lote de reagente e calibrador.

COI = RLU de amostra/RLU de corte

Interpretação dos resultados

1. As amostras com COI de anti-HBe >1,00 são não reativas, e negativas para o ensaio de anti-HBe. Nenhum teste adicional é necessário para essas amostras.
2. As amostras com COI de anti-HBe ≤1,00 são inicialmente reativas.
3. As amostras inicialmente reativas com COI de anti-HBe entre 0,60 e 1,00 precisam ser repetidas. As amostras devem ser transferidas a tubos de centrifugação e centrifugadas a ≥10.000 RCF (força centrífuga relativa) por 10 minutos, e retestadas em duplicata.

As amostras inicialmente reativas com um COI >1,00 em ambos os retestes são consideradas como não reativas, além de serem negativas para anti-HBe. Nenhum teste adicional é necessário.

As amostras inicialmente reativas com um COI ≤1,00 em ambos os retestes são considerados como várias vezes reativas.

As amostras várias vezes reativas, bem como as amostras inicialmente reativas com um COI <0,6 devem ser confirmadas de acordo com os algoritmos confirmatórios recomendados.

Limitação de medida

O resultado de anti-HBe em determinada amostra pode variar em ensaios de fabricantes diferentes devido às diferenças nos métodos do ensaio, calibração e especificidade do reagente. Os resultados do ensaio devem ser usados em conjunto com outros dados, como sintomas, resultados de outros testes, histórico clínico etc. para tomar decisões clínicas.

Características de desempenho

Sensibilid.

A sensibilidade do ensaio Anti-HBe série CL no ponto de corte é ≤ 0. 45 PEI U/mL.

561 amostras foram consideradas positivas para anti-HBe por métodos de referência. O kit de ensaio de anti-HBe no sistema Mindray CL-2000i detectou 552 amostras como positivas e 9 amostras como negativas. A taxa de coincidência positiva é de 98,40%.

Precisão

O ensaio de anti-HBe da série CL foi projetado para ter uma precisão de ≤10% (dentro do CV do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Comitê Nacional para Normas de Laboratórios Clínicos (NCCLS), Protocolo EP5-A2³. Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas execuções separadas por dia, em um total de 20 dias, usando um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de precisão estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Média de anti-HBe (COI)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
Controle negativo	1,68	1,82%	1,39%	3,37%
Controle positivo	0,07	2,34%	2,50%	5,13%

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 10 mg/dL, triglicerídeos até 1.500 mg/dL, proteína total até 10 g/dL, fator reumatoide (RF) até 375 IU/mL, anticorpo anti-DNA (ANA) até 1.000 U/L e Anticorpo humano anticamundongo (HAMA) não interferem no ensaio de anti-HBe. Essas substâncias mostram menos de 10% de interferência nas concentrações indicadas.

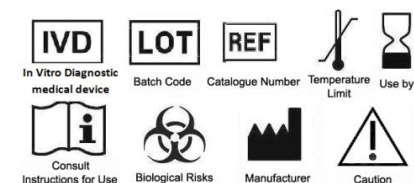
O ensaio de anti-HBe da Mindray foi avaliado quanto a possíveis substâncias com reação cruzada em indivíduos com condições médicas não relacionadas à infecção por HBV. Pelo menos 5 amostras contendo cada um dos patógenos potencialmente interferentes seguintes (HAV, HCV, HEV, HGV, HIV-1/2, TP, EBV, RV, CMV, HSV-1, Toxo Rubella, E.coli, Yeast e lentivirus) são testadas pelo anti-HBe da Mindray e um kit de reagente de referência. Todos os resultados são consistentes entre o ensaio da Mindray e o ensaio de referência.

825 amostras foram consideradas negativas para anti-HBe por métodos de referência. O ensaio de anti-HBe no sistema Mindray CL-2000i detectou 819 amostras como negativas e 6 amostras como positivas. A taxa de coincidência negativa é de 99,30%.

Avisos e precauções

1. Apenas para diagnóstico *in vitro*.
2. Siga todas as regras ao manusear reagentes de laboratório e adote as precauções de segurança necessárias.
3. Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados de teste da mesma amostra podem ser diferentes durante o uso de kits de reagentes de fabricantes diferentes no sistema da Mindray ou com o uso de kits de reagentes da Mindray em outros sistemas.
4. Não use kits de reagentes com a data de expiração vencida.
5. Não use reagentes misturados de lotes diferentes.
6. Sempre mantenha o pacote de reagente na posição vertical para assegurar que nenhuma micropartícula seja perdida antes do uso.
7. Não é recomendável usar o pacote de reagente aberto a mais de 28 dias.
8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida se as instruções no encarte deste pacote não forem seguidas.
9. Todos os espécimes e dejetos de reação devem ser considerados potencialmente perigosos. As amostras e os dejetos de reação devem ser manuseados de acordo com os regulamentos e diretrizes locais.
10. A folha de dados de segurança de material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos Gráficos



Bibliografia

1. Bruss V, et al. Formation of transmembranous hepatitis B e-antigen by cotranslation in vitro processing of the viral precore protein. *Virology* 1988;163:268-275
2. Brunetto MR. et al. A new hepatitis B virus strain in patients with severe anti-HBe positive chronic hepatitis B. *J Hepatol* 1990; 10:258-261
3. CLSI. EP5-A2: Vol. 24, No. 25, *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method*; Approved Guideline – Second Edition.

© 2017 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Todos os direitos reservados

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Endereço: Mindray building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

Endereço de e-mail: service@mindray.com.cn

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680