

HBeAg

Antígeno e da hepatite B (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
HBeAg111	2 ×50 testes
HBeAg112	2 ×100 testes

Uso pretendido

O ensaio de HBeAg da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação qualitativa do antígeno e da hepatite B (HBeAg) 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. Após a infecção por HBV, o HBeAg aumenta drasticamente depois do aparecimento de HBsAg, o que indica a reprodução ativa de HBV.

Um subgrupo de pacientes com infecção por HBV crônica é negativo na detecção sorológica de HBeAg, mas positivo em 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 HBeAg da série CL é um ensaio sanduíche de dois centros para determinar o nível de antígeno e do vírus da hepatite B.

Na primeira etapa, a amostra e a solução de tratamento de amostra são condicionadas em um frasco de reação e incubadas.

Na segunda etapa, micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpos monoclonais de anti-HBe (camundongo) e conjugado de anticorpo monoclonal de anti-HBe identificado como fosfatase alcalina (ALP) (camundongo) são condicionados no frasco de reação. Após a incubação, o HBeAg na amostra 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 imunológico (micropartículas anti-HBe mAb)-HBeAg-(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 HBeAg na amostra e o sinal (RLU) gerado durante a reação. A presença ou a ausência de HBeAg na amostra é

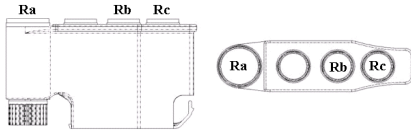
determinada pela comparação do sinal de quimioluminescência da reação ao sinal de corte determinado pela calibração (COI). Se o sinal de quimioluminescência da reação for maior do que o sinal de corte (COI≥1,0), a amostra será considerada reativa para HBeAg. Se o sinal de quimioluminescência da reação for menor do que o sinal de corte (COI<1,0), a amostra será considerada não reativa para HBeAg.

Componentes reagentes

O kit de reagentes é composto por três componentes: Ra, Rb e Rc. 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	Tampão de citrato 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 kit de reagente HBeAg (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 hit de reagente HBeAg (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

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Cat. N° HBeAg211: Calibradores de HBeAg, 1 × 2,0 mL para cada nível de calibrador C0 e C1

Cat. N° HBeAgN311: Controle negativo HBeAg, 3×2,0 mL

Cat. N° HBeAgN312: Controle negativo HBeAg, 6×2,0 mL

Cat. N° HBeAgP311: Controle positivo HBeAg, 3×2,0 mL

Cat. N° HBeAgP312: Controle positivo HBeAg, 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 8 horas, transfira o sobrenadante para tubos para armazenamento. As amostras devem ser bem tampadas e refrigeradas de 2 a 8 °C. Se o teste atrasar por mais de 7 dias, as amostras devem ser congeladas a -20°C ou menos.

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 HBeAg no instrumento pela primeira vez, inverta o frasco fechado do reagente 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 homogeneizadas. Se não for possível colocar as micropartículas em suspensão 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 nos códigos de barras anexados 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 HBeAg. 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 controles de qualidade recomendados para este ensaio são Controle negativo HBeAg e Controle positivo HBeAg da Mindray.

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 de ensaio. 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 série CL calcula a média dos valores de RLU de testes duplicados de ambos os calibradores C1 e C0.

O analisador série CL calcula o resultado de HBeAg com base na proporção de RLU de amostra para RLU de corte (índice de corte, COI) de cada espécime e controle.

RLU de corte = [(RLU média de C1 - RLU média de C0) × Coeficiente de calibração] + RLU média de C0

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 HBeAg<1,00 são não reativas. Essas amostras são considerados negativas para HBeAg, e não precisam de mais testes.
2. As amostras com COI de HBeAg≥1,00 são inicialmente reativas.
3. Todas as amostras inicialmente reativas com COI<2,00 devem ser transferidas para um tubo de centrifugação e centrifugadas a ≥10.000 RCF (força centrífuga relativa) por 10

minutos e, em seguida, testadas em duplicata.

As amostras inicialmente reativas com COI <1,00 em ambos os retestes são consideradas como negativas para HBeAg e não precisam de mais testes.

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

As amostras várias vezes reativas, bem como as amostras inicialmente reativas com um COI $\geq 2,0$ devem ser confirmadas de acordo com os algoritmos confirmatórios recomendados.

Limitação de medida

O HBeAg em um dado espécime, determinado com ensaios de fabricantes diferentes, pode variar 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

Sensibilidade.

A sensibilidade do ensaio de HBeAg no ponto de corte é $\leq 0,5$ PEI U/mL.

590 amostras foram consideradas positivas para HBeAg por métodos de referência. O ensaio de HBeAg Mindray CL2000i detectou 585 amostras como positivas e 5 amostras como negativas. A taxa de coincidência positiva é de 99,15%.

Precisão

O ensaio de HBeAg da série CL foi projetado para ter uma precisão de $\leq 10\%$ (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 HBeAg (COI)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
Controle negativo	0,21	2,09%	5,34%	8,09%
Controle positivo	3,93	2,48%	1,69%	3,34%

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 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 2000 U/L e Anticorpo humano anticamundongo (HAMA) não interferem no ensaio de HBeAg. Essas substâncias mostram menos de 10% de interferência nas concentrações indicadas.

O ensaio de HBeAg da Mindray foi avaliado quanto a possíveis substâncias com reação cruzada em

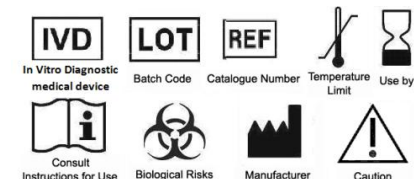
indivíduos com condições médicas não relacionadas à infecção por HBV. Pelo menos 5 amostras contendo cada um dos patógenos potencialmente reagentes seguintes (HAV, HCV, HEV, HGV, HIV-1/2, TP, EBV, RV, CMV, HSV-1, Toxo Rubella, *E.coli*, Yeast e lentivírus) são testadas pelo ensaio de HBeAg da Mindray e um ensaio de HBeAg de referência. Todos os resultados são consistentes entre o ensaio da Mindray e o ensaio de referência.

917 amostras foram consideradas negativas para HBeAg por métodos de referência. O ensaio de HBeAg no sistema Mindray CL-2000i detectou 915 amostras como negativas e 2 amostras como positivas. A taxa de coincidência negativa é de 99,78%.

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