

Anti-HBs

Anticorpo contra o antígeno de superfície da hepatite B (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
Anti-HBs111	2 ×50 testes
Anti-HBs112	2 ×100 testes

Uso pretendido

O ensaio de anti-HBs da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação quantitativa de anticorpo contra o antígeno de superfície da hepatite B (anti-HBs) sérico ou plasmático humano.

Resumo

Após a infecção do vírus da hepatite B (VHB), o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) é o primeiro marcador sorológico a aparecer no sangue. O aumento de anticorpos contra HBsAg (anti-HBs) acompanhado com a diminuição de HBsAg pode indicar a convalescença ou a recuperação de infecção por HBV. O ensaio de Anti-HBs é frequentemente usado para monitorar o status clínico dos indivíduos infectados por hepatite B. A detecção de anti-HBs em um indivíduo assintomático pode indicar uma exposição anterior ao HBV.¹

A vacina contra hepatite B pode estimular o sistema imunológico a produzir anti-HBs para prevenir a infecção por HBV¹. O ensaio de anti-HBs é comumente usado para monitorar a eficácia de vacinação contra hepatite B. A presença de anti-HBs é importante para proteção contra infecção pelo vírus da hepatite B (HBV).²

O anticorpo contra HBsAg é gerado principalmente contra o fator determinante "a" de HBsAg. O HBsAg é raramente detectado ao mesmo tempo com anti-HBs, exceto para mutantes de escape imunológico do HBV durante a infecção crônica.³

Princípios do ensaio

O ensaio de anti-HBs da série CL é um ensaio sanduíche de dois centros para determinar o nível de anticorpo contra o antígeno de superfície da hepatite B (anti-HBs).

Na primeira etapa, a amostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas com antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e HBsAg identificadas como fosfatase alcalina (ALP) são condicionados em um frasco de reação. Após a incubação, o anticorpo contra o antígeno de superfície da hepatite B (anti-HBs) na amostra vai se ligar a HBsAg revestido com micropartículas e HBsAg identificado com ALP para formar o complexo sanduíche (Micropartículas -HBsAg-Anti-HBs-(HBsAg-ALP). Em seguida, o frasco de reação será colocado no campo magnético. As micropartículas são capturadas magneticamente enquanto outras substâncias não ligadas são removidas por lavagem.

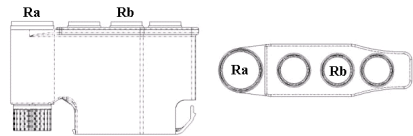
Na segunda etapa, a solução do substrato é adicionada ao veículo de reação. Ela é catalisada pela ALP no complexo imunológico capturado em micropartículas. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades de luz relativas (RLUs) por um fotomultiplicador integrado no sistema. A quantidade de anti-HBs presente na amostra é proporcional nas unidades de luz relativas (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de anti-HBs pode ser determinada por meio de uma curva de calibração, que é construída sobre uma curva de calibração principal codificada e três calibradores no nível do produto.

Componentes reagentes

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

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com antígeno de superfície da hepatite B no tampão TRIS com conservante.
Rb	Antígeno de superfície da hepatite B identificado com fosfatase alcalina em diluente 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 anti-HBs (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 kit de reagentes anti-HBs (CLIA) pode ser armazenado onboard e usado por no máximo 28 dias após a abertura em 2~8 °C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Cat. Nº Anti-HBs211: Calibradores de anti-HBs, 1 × 2,0 mL para cada nível de calibrador C0, C1 e C2

Cat. Nº Anti-HBsN311: Controle negativo anti-HBs, 3×2,0 mL

Cat. Nº Anti-HBsN312: Controle negativo anti-HBs, 6×2,0 mL

Cat. Nº Anti-HBsP311: Controle positivo anti-HBs, 3×2,0 mL

Cat. Nº Anti-HBsP312: Controle positivo anti-HBs,

6×2,0 mL

Cat. Nº CS511: Solução de substrato, 4 × 115 mL

Cat. Nº WB411: Tampão de lavagem, 1 × 10 L

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 a amostra a 3.500 rpm por no mínimo 10 minutos após a formação do coágulo ser concluída. A amostra deve ser testada assim que possível após a coleta da amostra e o tratamento pré-analítico. Teste a amostra dentro de duas horas após a centrifugação. Caso o teste não seja concluído em 8 horas, transfira o sobrenadante para tubos para armazenamento. A amostra deve ser fechada e refrigerada a 2~8°C. Se os testes forem ser atrasados por mais de 14 dias, as amostras deverão ser congeladas a -20°C ou abaixo.

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 celulares 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-HBs 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. Inspeccione visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas estão homogeneizadas. Se as micropartículas permanecerem coladas no frasco, continue invertendo até que elas sejam totalmente misturadas. 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

O anti-HBs da série CL foi calibrado de acordo com a 2ª norma internacional de anticorpos anti-HBs da OMS (código NIBSC: 07/164).

As informações específicas do kit de reagente da curva de calibração principal anti-HBs são armazenadas no código de barras bidimensional colado no pacote do reagente. Ele é usado com os calibradores do produto para a calibração do lote do reagente específico. Ao realizar a calibração, verifique as informações da curva de calibração principal do código de barras no sistema primeiro, e depois use os calibradores do produto em três níveis. A curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste anti-HBs. 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 dois níveis recomendados de controles de qualidade para este ensaio são Controle negativo anti-HBs e Controle positivo anti-HBs 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 testadas novamente. 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 calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra com base na curva de calibração principal do código de barras, e um Ajuste da curva logística de 4 parâmetros (4PLC) com as unidades de luz relativas (RLUs) geradas dos calibradores do produto em três níveis das concentrações definidas. Os resultados são mostrados na unidade de mIU/mL.

Diluição

Amostras com concentrações de anti-HBs acima do limite superior podem ser diluídas com o Diluente da Amostra da Mindray. A diluição recomendada é 1:40 (realizada manualmente ou automaticamente pelo analisador). A concentração da amostra diluída deve ser > 10 IU/mL. Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição automática realizada pelo analisador, o sistema multiplica automaticamente o resultado pelo fator de diluição ao calcular a concentração da amostra.

Faixa de referência

Dois tipos de kits de ensaio de anti-HBs reconhecidos foram utilizados para selecionar 414 amostras de anti-HBs não reativas e 314 amostras

de anti-HBs reativas. Essas amostras foram testadas pelo kit de anti-HBs no sistema Mindray CL-2000i. Os dados foram analisados com o software de análise estatística (curva ROC). A especificidade e a sensibilidade podem variar de acordo com o valor de corte selecionado. Um ponto de corte de 10 mIU/mL com a melhor especificidade e sensibilidade equilibradas foi determinado como o ponto de corte do kit de anti-HBs da Mindray.

As amostras testadas com o kit de anti-HBs no sistema Mindray CL2000i com uma concentração inferior ao ponto de corte (10 mIU/mL) são consideradas não reativas para anti-HBs; com uma concentração maior que ou igual ao limite, são consideradas reativas para anti-HBs.

Interpretação dos resultados

- 1. As amostras com concentração de anti-HBs <10 mIU/mL são não reativas. Essas amostras são considerados negativas para anti-HBs, e não precisam de mais testes.
- 2. As amostras com COI de anti-HBs ≥10 mIU/mL são inicialmente reativas.
- 3. As amostras inicialmente reativas com concentração de anti-HBs entre 10 e 100 mIU/mL precisam ser repetidas. As amostras devem ser transferidas a um tubo de centrifugação e centrifugadas a ≥10.000 RCF (força centrífuga relativa) por 10 minutos, e retestadas em duplicata.

As amostras inicialmente reativas com concentração de anti-HBs <10 mIU/mL em ambos os retestes são negativas para anti-HBs.

As amostras inicialmente reativas com concentração de anti-HBs >10 mIU/mL em um dos retestes são repetidamente positivas para anti-HBs.

As amostras várias vezes reativas, bem como as amostras inicialmente reativas com concentração ≥100 mIU/mL devem ser confirmadas de acordo com os algoritmos confirmatórios recomendados.

Limitação de medida

O limite superior deste ensaio é de 1.000 mIU/mL. Uma amostra com concentração de anti-HBs menor que o limite superior pode ser quantitativamente determinado, enquanto a amostra com uma concentração mais alta do que o limite superior será relatado como >1.000 mIU/mL ou diluindo a amostra com o Diluente de amostra da Mindray.

A concentração de anti-HBs em uma determinada amostra pode variar, dependendo dos sistemas de medição dos fabricantes. Isso é devido a diferenças em métodos de 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.

O kit de reagente anti-HBs (CLIA) tem uma sensibilidade analítica de ≤2,0 mIU/mL. A sensibilidade analítica é definida como a mais baixa concentração de analito que pode ser diferenciada de uma amostra sem analitos. Ela é medida como a

concentração de anti-HBs em dois desvios-padrão acima da média de RLU de 20 medições de uma amostra sem analito.

314 amostras foram consideradas positivas para anti-HBs por métodos de referência. O ensaio de anti-HBs da Mindray no sistema CL-2000i detectou 308 amostras como positivas e 6 amostras como negativas. A taxa de coincidência positiva é de 98,10%.

Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pela sensibilidade analítica e o limite superior da curva de calibração principal. A faixa de relato do kit de reagentes de anti-HBs (CLIA) é 2,0~1000,0 mIU/mL (ou o limite superior é de até 40.000 mIU/mL para amostras diluídas 40 vezes).

Precisão

O ensaio de anti-HBs 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-A2⁴. 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-HBs (mIU/mL)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
Controle negativo	8,22	2,70%	2,15%	5,08%
Controle positivo	257,09	1,97%	3,94%	5,65%

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicérides até 1500 mg/dL e proteína total até 10 g/dL não vão interferir com o ensaio de anti-HBs da série CL. Essas substâncias mostram menos de 10% de interferência nas concentrações indicadas.

O Kit de anti-HBs 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-HBs da Mindray e um método de referência. Todos os resultados são consistentes no procedimento de medição da Mindray e de referência.

414 amostras foram consideradas negativas para anti-HBs por métodos de referência. O ensaio de anti-HBs da Mindray no sistema CL-2000i detectou 407 amostras como negativas e 7 amostras como positivas. A taxa de coincidência negativa é de 98,30%.

Efeito de gancho

Não há nenhum efeito de gancho de dose alta em uma concentração de anti-HBs de até 70.000 mIU/mL.

Exatidão

Dois controles de veracidade com valores rastreáveis definidos de acordo com o padrão internacional foram usados para verificar a exatidão desse ensaio. Os resultados mostraram que o desvio relativo foi menor que ±10%. Os resultados estão listados na tabela a seguir.

Amostra	Anti-HBs medido (mIU/mL)	Anti-HBs definido (mIU/mL)	Desvio Relativo
Nível 1	21,16	20,36	3,94%
Nível 2	150,91	146,8	2,80%

Linearidade

Uma amostra com alta concentração de anti-HBs (aproximadamente 250 mIU/mL) foi misturada com uma amostra de baixa concentração (<5 mIU/mL) em proporções diferentes, gerando uma série de diluições. O total de anti-HBs de cada diluição foi determinado com o uso do Ensaio de anti-HBs da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada no intervalo de 5,00 mIU/mL a 200,00 mIU/mL, o coeficiente de correlação é ≥0,9900. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Anti-HBs (mIU/mL)	1	2	3	4	5	6
Esperado	1,59	53,59	106,04	164,03	219,80	276,12
Medido	1,59	55,22	110,45	165,67	220,90	276,12

Comparação de métodos

O Ensaio de Anti-HBs da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico comercialmente disponível em um estudo de correlação. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação Deming são mostrados na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (mIU/mL)	Inclinação	Intercep-tação	Coefficiente de correlação
0~1000 mIU/mL	1,45	1,90	0,949

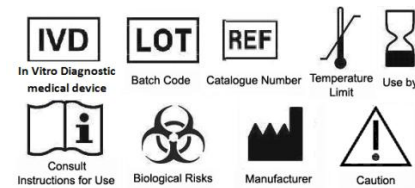
Avisos e precauções

- 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. Ambrosch F, Frisch-Niggemeyer W, Kremsner P, et al. Persistence of vaccine-induced antibodies to hepatitis B surface antigen and the need for booster vaccination in adult subjects. *Postgrad Med J* 1987; 63(S2):129-135.
- 2. Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Immune response to hepatitis B revaccination. *J Med Virol* 1988;24: 377-384.
- 3. Lada O, Benhamou Y, Poynard T, et al. Coexistence of hepatitis B surface antigen (Anti-HBs) and anti-HBs antibodies in chronic hepatitis B virus carriers: influence of "a" determinant variants. *J Virol* 2006; 80: 2968-2975.
- 4. 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