

HBsAg Confirmatory Test

Teste confirmatório HBsAg

11820648 122

2 x 8-40 testes

Português

Função

Imunoensaio para a confirmação *in vitro* da presença do antígeno de superfície da hepatite B em amostras de soro e plasma humanos repetidamente reactivas quando testadas com o teste Elecsys HBsAg.

Características

O teste confirmatório Elecsys HBsAg baseia-se no princípio da neutralização de anticorpos específicos.¹ Os anticorpos policlonais específicos dirigidos contra o HBsAg fixam-se a epitopos imunodominantes do antígeno de superfície da hepatite B, bloqueando os locais de ligação dos anticorpos utilizados no ensaio Elecsys HBsAg.

Princípio do teste

O princípio do teste baseia-se no pré-tratamento das amostras com reagente confirmatório e com reagente de controlo, seguido pelo ensaio com o teste Elecsys HBsAg. Em paralelo, deverá efectuar-se o controlo positivo, Elecsys PreciControl HBsAg 2, de modo a verificar o desempenho do teste.

Pré-tratamento das amostras:

- As amostras que são repetidamente reactivas no teste Elecsys HBsAg são tratadas em paralelo com o reagente confirmatório e com o reagente de controlo e, de seguida, incubadas. Os anticorpos anti-HBs contidos em excesso no reagente confirmatório neutralizam qualquer HBsAg eventualmente presente na amostra. No teste Elecsys HBsAg subsequente, isto leva a uma redução do valor do índice de cutoff (ICO) (sinal da amostra/cutoff) em comparação com o valor inicialmente obtido para a amostra.

Teste Elecsys HBsAg:

- 1ª incubação: As duas preparações de amostras ou controlos pré-tratados reagem com um anticorpo monoclonal específico de HBsAg biotinilado e com um anticorpo monoclonal específico de HBsAg marcado com complexo de ruténio^a, formando um complexo sandwich.
- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados automaticamente pelo software Elecsys comparando o sinal de electroquimioluminescência obtido do produto de reacção da amostra com o sinal do valor de cutoff anteriormente obtido pela calibração do ensaio anti-HBsAg. Segue-se uma verificação manual da validade do teste e a interpretação dos resultados.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys HBsAg Confirmatory Test, Ref. 11820648 - 2 x 8-40 testes

Frasco 1 Reagente confirmatório (tampa preta), 2 frascos com 1,3 ml cada:
Anticorpo anti-HBs (humano) > 200.000 UI/l em soro humano; conservante.

Frasco 2 Reagente de controlo (tampa branca), 2 frascos com 1,3 ml cada:
Soro humano, anticorpos anti-HBs < 3 UI/l; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Todo o material de origem humana deve ser considerado como potencialmente infeccioso. Todos os produtos derivados de sangue foram preparados exclusivamente com sangue de doadores testados individualmente e que, segundo os métodos aprovados pela FDA, estão isentos de HBsAg e de anticorpos para o HCV e HIV.

No entanto, como nenhum método pode excluir com total segurança o risco de potencial infecção, o material deve ser manipulado com o mesmo cuidado

que é utilizado no caso das amostras dos pacientes. Em caso de exposição, cumpra as instruções das autoridades de saúde competentes.^{9,10}

Os reagentes não podem ser utilizados após o fim do prazo de validade indicado.

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo estão prontos a ser utilizados. Evite contaminação. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Estabilidade das soluções 1 e 2:

em frasco fechado a 2-8°C: até ao fim do prazo de validade indicado após abertura a 2-8°C: 8 semanas

Colheita e preparação das amostras

Amostras que foram repetidamente reactivas no teste Elecsys HBsAg. Também se aplicam as condições referentes à estabilidade e colheita das amostras descritas para o teste Elecsys HBsAg.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 11820532, dispositivo de reagentes Elecsys HBsAg para 100 testes (os materiais necessários para a realização do ensaio Elecsys HBsAg estão descritos no folheto informativo do teste respectivo)
- Analisadores Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Realização do ensaio

Pré-tratamento das amostras:

A escolha dos volumes dos reagentes depende da magnitude do respectivo índice de cutoff das amostras que foram reactivas no teste Elecsys HBsAg. Os volumes indicados são pipetados para as cuvetes de amostra Elecsys:

- Para amostras positivas com um índice de cutoff < 7,0
270 µl de amostra + 30 µl de reagente confirmatório
270 µl de amostra + 30 µl de reagente de controlo

ou

- Para amostras positivas com um índice de cutoff entre 7,0 e < 30
150 µl de amostra + 150 µl de reagente confirmatório
150 µl de amostra + 150 µl de reagente de controlo

ou

- Para amostras positivas com um índice de cutoff ≥ 30
Amostras prediluídas a 1:20 com Elecsys Diluent Universal
150 µl de amostra diluída +150 µl de reagente confirmatório
150 µl de amostra diluída +150 µl de reagente de controlo

O dispositivo Elecsys PreciControl HBsAg 2, que é o controlo positivo, deverá ser sempre executado em paralelo como verificação do desempenho:

270 µl de Elecsys PreciControl HBsAg 2 + 30 µl de reagente confirmatório
270 µl de Elecsys PreciControl HBsAg 2 + 30 µl de reagente de controlo

Interpretação da mistura de reacção: 30-60 minutos a 15-25°C ou de um dia para o outro a 2-8°C.

Teste Elecsys HBsAg:

As amostras pré-tratadas são colocadas na zona destinada a amostras e registadas através da introdução dos dados de identificação da amostra.

O ensaio Elecsys HBsAg é realizado de acordo com as instruções fornecidas no folheto informativo do dispositivo.

Calibração

Para mais informações sobre a calibração, frequência da calibração e verificação da calibração, consulte os dados fornecidos no folheto informativo do dispositivo Elecsys HBsAg.

Controlo de qualidade

O dispositivo Elecsys PreciControl HBsAg 2 deverá ser sempre realizado em paralelo com as amostras que necessitam de confirmação.

A verificação é feita pelo utilizador.

Para o teste Elecsys HBsAg, aplicam-se as condições indicadas no folheto informativo respectivo.



HBsAg Confirmatory Test

cobas

Teste confirmatório HBsAg

Cálculo

O analisador calcula automaticamente o valor de cutoff com base nas medições dos dois calibradores Elecsys HBsAg (Cal1 e Cal2) incluídos no dispositivo. Os resultados das amostras são apresentados como reactivos ou não reactivos e sob a forma de um índice de cutoff (ICO) = sinal da amostra/cutoff. O índice de cutoff é necessário para a selecção dos volumes correctos de pré-tratamento das amostras para o teste confirmatório.

Limitações – interferências

Devido ao "efeito high-dose hook", as amostras com concentrações de HBsAg muito elevadas (> 1 mg/ml ou > 550.000 UI/ml) podem originar um índice de cutoff < 30 no teste Elecsys HBsAg. Estas amostras não são adequadamente neutralizadas pelo reagente confirmatório no volume indicado e, conseqüentemente, não são confirmadas como positivas. Estas amostras podem ser reconhecidas pelo facto de o ICO do teste com o reagente de controlo ser superior ao ICO destas amostras no teste HBsAg original (efeito de diluição). O teste confirmatório para estas amostras tem de ser repetido com uma prediluição mais elevada (1:100).

Para o teste Elecsys HBsAg aplicam-se as informações apresentadas no folheto informativo na secção "Limitações - interferências".

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Avaliação e interpretação dos resultados

Verificação da validade do teste

Antes da avaliação, tem de verificar-se a validade do teste. A avaliação pode ser realizada quando, além das condições que se aplicam ao teste Elecsys HBsAg, são respeitados os seguintes critérios:

- O índice de cutoff do controlo Elecsys PreciControl HBsAg 2 do teste com o reagente confirmatório tem de ser < 50% do ICO do teste feito com o reagente de controlo:
ICO do teste com o reagente de controlo \triangleq 100%
ICO do teste com o reagente confirmatório \triangleq x%
Se x for > 50%, é necessário verificar as condições de teste. Sempre que necessário, repetir o teste com reagente recém-colocado.
- Para que a avaliação da amostra seja válida, o índice de cutoff da amostra com o reagente de controlo tem de ser \geq 1,0. Um índice de cutoff < 1,0 indica uma diluição demasiado elevada. Estas amostras têm de ser testadas de novo não diluídas ou com uma diluição mais baixa.

Avaliação e interpretação dos resultados

- Para confirmar o resultado positivo de uma amostra, o índice de cutoff da amostra com o reagente confirmatório tem de ser < 50% do ICO obtido com o reagente de controlo, que tem de ter um índice de cutoff \geq 1,0. Avaliação:
ICO do teste com o reagente de controlo \triangleq 100%
ICO do teste com o reagente confirmatório \triangleq x%
Interpretação:
x > 50% e ICO do teste com reagente de controlo \geq 1,0 = não reactiva
x > 50% e ICO do teste com reagente de controlo < 1,0 = não válida
x < 50% e ICO do teste com reagente de controlo \geq 1,0 = positiva
x < 50% e ICO do teste com reagente de controlo < 1,0 = indeterminada

Os resultados não válidos têm de ser repetidos utilizando reagente novo. Os resultados indeterminados devem ser repetidos. No caso do resultado ser novamente indeterminado, uma nova amostra deve ser examinada.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho para o pré-tratamento manual das amostras, seguido pela determinação nos analisadores Elecsys. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade dos passos do teste executados manualmente foi determinada com 3 soros de concentrações diferentes de HBsAg (8–10 vezes por amostra com os reagentes de controlo e confirmatório). Após um período de incubação de 30 minutos a 20°C, as amostras pré-tratadas foram analisadas nos analisadores Elecsys utilizando reagentes, calibradores e controlos Elecsys.

Resultados do teste HBsAg original - sem pré-tratamento das amostras (intra-ensaio n = 8-10):

| Amostra | Média ICO | DP ICO | CV % |
|-----------------------------|--------------|-----------|---------|
| SH ^b , ICO < 7,0 | 1,65 | 0,04 | 2,2 |
| SH, ICO 7,0 - < 30 | 11,3 | 0,11 | 1,0 |
| SH, ICO \geq 30 | 669 | 16,0 | 2,4 |

b) SH = Soro humano

Resultados após pré-tratamento manual das amostras:

| Amostra | Reagente de controlo | | | Reagente confirmatório | | | |
|--------------------|----------------------|-----------|---------|------------------------|-----|-----------|---------|
| | Média ICO | DP ICO | CV % | Média ICO | % | DP ICO | CV % |
| SH, ICO < 7,0 | 1,57 | 0,03 | 2,1 | 0,42 | 27 | 0,04 | 9,1 |
| SH, ICO 7,0 - < 30 | 4,85 | 0,10 | 2,1 | 0,40 | 8,2 | 0,02 | 3,8 |
| SH, ICO \geq 30 | 1321 | 11,6 | 0,9 | 1,31 | 0,1 | 0,10 | 7,9 |

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

A sensibilidade indicada foi determinada através da leitura da concentração de HBsAg que corresponde ao sinal do valor de cutoff das curvas padrão obtidas com diluições sequenciais de padrões de HBsAg em soro humano negativo para HBV.

Utilizando o Elecsys HBsAg Confirmatory Test, diluições com concentrações \leq 0,1 U/ml e \leq 0,1 UI/ml foram definitivamente confirmadas para o padrão do Paul-Ehrlich-Institut (subtipo ad, 1987) e para o padrão 80/549 da OMS (subtipo ad, 1985).

Comparação dos métodos

Uma comparação do Elecsys HBsAg Confirmatory Test com um teste confirmatório de HBsAg (MEIA) em comercialização, utilizando 90 amostras de pacientes repetidamente reactivas, obteve os seguintes resultados:

| Teste HBsAg confirmatório | Positivas confirmadas | Negativas | Concordância |
|---------------------------|-----------------------|-----------|--------------|
| Teste Elecsys | 90 | 0 | 100% |
| Teste de comparação MEIA | 90 | 0 | 100% |

Sensibilidade clínica

12 em 12 amostras com índice de cutoff no intervalo 1–2, foram todas confirmadas com o teste Elecsys HBsAg Confirmatory Test.

Especificidade clínica

A especificidade do Elecsys HBsAg Confirmatory Test foi testada utilizando amostras positivas e falso positivas confirmadas. 318 amostras positivas foram confirmadas como positivas. Uma amostra falso positiva de um dador de sangue e 19 amostras falso positivas preparadas artificialmente e interferentes foram negativas. Assim, a especificidade do Elecsys HBsAg Confirmatory Test é de 100% para ambos os grupos.

Bibliografia

- Gerlich W. Viral Hepatitis. Section 2, Churchill Livingstone, Ed. Zuckermann AJ, Thomas HC, 1993:83-113.
- Hollinger FB. Hepatitis B virus. In Fields BN, Knipe DM (eds). Virology ed. 2 New York Raven Press 1990;2:2171-2236.
- Couroucé-Pauty AM, Plancon A, Soulier JP. Distribution of HBsAg Subtypes in the World. Vox Sang 1983;44:197-211.
- Frösner G. Moderne Hepatitisdiagnostik. Frösner G Kilian Verlag, Marburg 1996.
- Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. Serologic Diagnosis of Acute and Chronic Viral Hepatitis. Seminars in Liver Disease 1991;11:73-83.
- Frösner G, Schomerus H, Wiedmann KH et al. Diagnostic significance of quantitative HBsAg determination in acute and chronic hepatitis B infection. Eur J Clin Microbiol 1982;1:52-58.
- CDC. Prevention of Perinatal Transmission of Hepatitis B Virus: Prenatal Screening of all Pregnant Women for Hepatitis-B-Surface Antigen: Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). MMWR 1988;37:341-355.
- Stiko Recommendations, Bundesgesundheitsbl. 1996;1/96:32-42.
- Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260-273.



HBsAg Confirmatory Test

cobas

Teste confirmatório HBsAg

10. Directiva do Conselho (2000/54/CEE). Jornal Oficial das Comunidades Europeias Nº. L262 de 17 de Out., 2000.


NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à excepção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.
©2005 Roche Diagnostics

CE 0123

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

