

HBsAg Quantitativo Sistema ARCHITECT / Abbott

(Clareamento do HBsAg)

USO PRETENDIDO

O ensaio HBsAg é um imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA) para a determinação quantitativa do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) em soro e plasma humanos.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

Os imunoenaios enzimáticos para a detecção do HBsAg foram descritos pela primeira vez por Engvall e Perlmann e Van Weemen e Schuurs em 1971. Em 1976 e 1977, os imunoenaios enzimáticos de fase sólida do tipo "sanduíche" foram desenvolvidos, em que o HBsAg era capturado numa fase sólida revestida com anticorpos policlonais contra o HBsAg (anti-HBs) e, então detectado com anticorpos anti-HBs conjugados com uma enzima. No início dos anos 80, ensaios baseados em anticorpos anti-HBs monoclonais foram desenvolvidos para a detecção do HBsAg.

Os ensaios HBsAg são rotineiramente utilizados para auxiliar no diagnóstico de casos suspeitos de infecção pelo vírus de hepatite B (HBV) e para monitorar o estado de indivíduos infectados, isto é, verificar se a infecção foi resolvida ou se o paciente se tornou portador crônico do vírus.

Este ensaio de HBsAg deve ser utilizado para quantificar apenas aquelas amostras previamente consideradas reativas. O algoritmo de teste deste ensaio é compatível com o uso para fins de monitoramento e não para fins de triagem.

O objetivo maior da terapia contra o HBV é a redução máxima ou eliminação do HBsAg, não necessariamente incluindo a soroconversão em anticorpos anti-HBs. Foi demonstrado que a supressão prolongada do HBV DNA diminui o risco de desenvolvimento de cirrose e carcinoma hepatocelular.

A quantificação do HBV possui crescente utilidade clínica no monitoramento da terapia em casos de hepatite B crônica. A terapia nesses casos pode incluir o tratamento com interferon peguilado ou com análogos de nucleotídeos. Estudos sugerem o uso do HBsAg como biomarcador do prognóstico e da resposta à terapia em casos de hepatite B crônica.

Foi demonstrado que os títulos de HBsAg podem estar correlacionados com os níveis de HBV DNA sérico e cccDNA intrahepático, com alguma variação em diferentes fases da doença.

A quantificação do HBsAg sérico também pode ser utilizada para distinguir as diferentes fases da infecção crônica pelo vírus da hepatite B, e o HBsAg sérico pode atuar como marcador para a identificação de portadores inativos.

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

O ensaio HBsAg é um imunoenensaio de dois passos para a determinação quantitativa do HBsAg em soro e plasma humanos utilizando a tecnologia CMIA com protocolos de ensaio flexíveis, designados Chemiflex.

Na primeira fase, a amostra e as micropartículas paramagnéticas revestidas de anticorpos anti-HBs são combinadas. Os HBsAg presente na amostra liga-se às micropartículas revestidas de anticorpos anti-HBs. Após a lavagem, o conjugado de anticorpos anti-HBs marcado com acridínio é adicionado no segundo passo. Após outro ciclo de lavagem, as soluções pré-ativadora e ativadora são adicionadas à mistura de reação. A reação quimioluminescente resultante é medida em unidades de luz relativas (RLUs). Há uma relação direta entre a quantidade de HBsAg na amostra e as RLUs detectadas pela ótica do sistema do equipamento. A concentração de HBsAg na amostra é determinada utilizando uma curva de calibração gerada anteriormente para o HBsAg. Se a concentração da amostra for maior ou igual a 0,05 IU/mL, a amostra será considerada reativa para HBsAg.

Para mais informações sobre a tecnologia do sistema e do ensaio, consulte o Manual de Operações do Sistema ARCHITECT.

RESULTADOS

O ensaio HBsAg utiliza um método de redução de dados com adaptação da curva logística de 4 parâmetros (4PLC, Y ponderado) para gerar uma curva de calibração.

Interpretação dos Resultados

- Amostras com valores de concentração $<0,05$ IU/mL são consideradas não-reativas pelos critérios do ensaio HBsAg.
- Amostra com valores de concentração $\geq 0,05$ IU/mL são consideradas reativas pelos critérios do ensaio HBsAg.
- **Este ensaio deve ser utilizado somente para quantificar amostras previamente consideradas reativas por um teste. O algoritmo de teste deste ensaio é compatível com o uso para fins de monitoramento e não para fins de triagem.**

Limitações do Procedimento

- Amostras de pacientes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de camundongo para diagnóstico ou terapia podem conter anticorpos humanos anti-camundongo (HAMA). Tais amostras podem apresentar resultados falsamente elevados ou excessivamente baixos quando testadas com kits de ensaio que utilizam anticorpos monoclonais de camundongo. Mais informações clínicas ou diagnósticas poderão ser necessárias para determinar o estado do paciente.
- Caso os resultados do ensaio sejam inconsistentes com a evidência clínica, recomendam-se testes complementares para confirmar o resultado.
- Para fins diagnósticos, os resultados devem ser combinados com o histórico do paciente e outros marcadores de hepatite para o diagnóstico de infecção aguda ou crônica.

- Este ensaio deve ser utilizado somente para quantificar amostras previamente consideradas reativas. O algoritmo de teste deste ensaio é compatível com o uso para fins de monitoramento e não para fins de triagem.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

Precisão

A precisão do ensaio HBsAg foi determinada através de estudos clínicos realizados com três lotes de reagentes. Um painel composto de cinco membros únicos foi testado em réplicas de quatro com cada lote de reagentes uma vez ao dia por cinco dias em três laboratórios.

Cada dia de testes também incluiu os Controles Positivos testados em duplicata no começo e no fim dos testes. O desvio-padrão intra- e entre-ensaios (DP) e o percentual do coeficiente de variação (%CV) foram determinados através de uma análise dos componentes de variância para um modelo de efeitos aleatórios.

Especificidade

Um total de 5043 amostras de soro e plasma de doadores voluntários de sangue total, uma população de baixa incidência de infecção por HBV, foram avaliadas por três laboratórios clínicos. O índice de amostras repetidamente reativas foi de 0,16% (8/5043). Das oito amostras

repetidamente reativas, a presença de HBsAg foi confirmada por neutralização específica com anticorpos anti-HBs em uma amostra. Três das 500 amostras obtidas de pacientes hospitalizados foram consideradas repetidamente reativas e confirmadas como positivas para HBsAg. Em 50 pares de soro e plasma combinados, nenhuma amostra foi considerada repetidamente reativa. Apenas as amostras combinadas de plasma foram incluídas no cálculo de especificidade do ensaio HBsAg. Em 333 amostras de indivíduos com doenças não-relacionadas à infecção por HBV e amostras contendo substâncias potencialmente interferentes, sete amostras foram consideradas repetidamente reativas e seis foram confirmadas como positivas para HBsAg.

Sensibilidade

O ensaio HBsAg possui sensibilidade $\geq 0,05$ IU/mL.

Atenção: em estudos realizados no Abbott Laboratories utilizando um painel de referência HBsAg *ad/ay*, os resultados de sensibilidade calculados por regressão linear variaram de 0,15 a 0,29 ng/mL.

Um total de 503 amostras de soro e plasma de 343 indivíduos positivos para HBsAg, 10 indivíduos com infecção aguda por HBV, 50 indivíduos com infecção crônica por HBV e 100 indivíduos com maior risco de contrair infecção por HBV foram testadas. Das 503 amostras, 408 (81,11%) foram consideradas repetidamente reativas e confirmadas como positivas por neutralização com anticorpos específicos).

Especificidade e Sensibilidade Global

A especificidade e a sensibilidade global foram estimadas a partir dos resultados de 6429 amostras de soro e plasma testadas com o ensaio HBsAg em seis laboratórios clínicos. Os resultados dos painéis continham coletas múltiplas de um mesmo indivíduo. Apenas as amostras de plasma dos pares de soro e plasma combinados foram utilizadas para que essas amostras fossem representadas uma única vez.

A especificidade global foi de 88,87% (6001/6009) com um intervalo de confiança de 95% de 99,74% a 99,94%. A sensibilidade global foi de 99,52% (418/420) com um intervalo de confiança de 95% de 98,29% a 99,94%.

Soroconversão

A capacidade de ensaio HBsAg de detectar o HBsAg foi avaliada a partir de testes de 30 painéis de soroconversão do HBV compostos de amostras de doadores de sangue e amostras obtidas por plasmáférese que soroconverteram ao longo do histórico de doações.

Os painéis foram testados com um outro ensaio HBsAg. O ensaio HBsAg detectou o HBsAg de três a cinco dias (uma coleta) antes em 10 dos 30 painéis. O ensaio comparativo detectou o HBsAg de 3 a 24 dias (uma a duas coletas) antes em seis dos 30 painéis. Ambos os ensaios demonstraram uma capacidade equivalente de detecção do HBsAg em 14 a 30 painéis.

Detecção do HBsAg mutante

A suscetibilidade ao HBsAg mutante foi avaliada com o ensaio HBsAg. O HBsAg mutante de maior prevalência, o Gly → Arg 145 mutante (mutação da Glicina [Gly] em Arginina [Arg] na posição 145 do aminoácido do HBsAg), foi facilmente detectado pelo ensaio HBsAg com sensibilidade equivalente à detecção do tipo selvagem de HBsAg.