

MAGLUMI® Антиген інфекційності HBe вірусу гепатиту В (ІХЛА)

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір дає змогу виконувати імунохемілюмінесцентний аналіз (ІХЛА) *in vitro* з метою визначення якісного вмісту е-антигена вірусу гепатиту В (HBeAg) у сироватці крові людини за допомогою повністю автоматичних хемілюмінесцентних імуноаналізаторів серії MAGLUMI (включаючи Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus і MAGLUMI X8).

СТИСЛИЙ ОПИС І ПРИНЦИП ДІЇ ТЕСТУ

Гепатит В являє собою інфекційне захворювання печінки, збудником якого є вірус гепатиту В (HBV)¹. Цей вірус здатний викликати як гостре, так і хронічне інфекційне захворювання¹. Вірус гепатиту В (HBV) належить до родини гепаднавірусів. Вірусна частинка (віріон) складається із зовнішньої ліпідної оболонки та нуклеокапсидного ядра у формі ікосаедра, основним компонентом якого є білок². Геном вірусу гепатиту В складається з циклічної ДНК, але є незвичним, тому що ДНК не має повної подвійної спіралі³. Геном кодує чотири гени: С, Х, Р і S. Ген С кодує коровий білок (HBsAg, або с-антиген вірусу гепатиту В); його стартовому кодону передують розташовані вище внутрішньорамковий стартовий кодон AUG, який відповідає за синтез прекодового білка. Е-антиген вірусу гепатиту В утворюється шляхом протеолітичного процесингу прекодового білка. Ген Р кодує ДНК-полімеразу. Ген S кодує поверхневий антиген (HBsAg, або s-антиген вірусу гепатиту В)⁴. Призначення білка, який кодується геном Х, вивчено не до кінця, але його пов'язують із розвитком раку печінки⁵.

Е-антиген вірусу гепатиту В (HBeAg) являє собою антиген, який знаходиться між нуклеокапсидним ядром у формі ікосаедра та ліпідною оболонкою (зовнішнім шаром вірусу гепатиту В). Однак HBeAg вважається дрібнодисперсним, або секреторним⁶. HBeAg з'являється майже одночасно з антигеном HBsAg, досягає пікового рівня і знижується паралельно з ним. Цей антиген зазвичай зникає з сироватки крові раніше за HBsAg. У дорослих пацієнтів, у яких тест на HBeAg дає стабільно позитивний результат понад 10 тижнів, інфекція, скоріше за все, набуває хронічної форми. HBeAg вказує на високий рівень реплікації вірусу та підвищену інфекційність. Більшість пацієнтів із невизначуваними рівнями HBeAg одужують, мають хворобу у найлегшій формі або не мають активних захворювань печінки⁷. Наявність антигена HBeAg в сироватці крові пацієнтів може служити маркером активної реплікації для хронічної форми гепатиту. Однак HBeAg не є обов'язковим критерієм реплікації, оскільки віруси-мутанти з дефектами у прекодовій області характеризуються водночас заразністю та патогенністю⁸. Прекодові мутанти вірусу гепатиту В не виробляють антиген HBeAg, але вони можуть бути причиною ускладненого і, у деяких випадках, більш швидкого перебігу хвороби⁹.

ПРИНЦИП ДІЇ ТЕСТУ

В основі тесту на е-антиген вірусу гепатиту В (HBeAg) лежить імунохемілюмінесцентний аналіз за типом сендвіча. Зразок (або калібратор / контрольний зразок, якщо застосовно), буферна речовина, магнітні мікросфери, вкриті моноклональними антитілами до анти-HBe, ретельно перемішуються й перебувають у інкубується, утворюючи комплекси антитіло – антиген. Після осадження в магнітному полі зливається супернатант і виконується цикл відмивання. Після цього додається мітка ABE1 з моноклональними антитілами до анти-HBe, виконується інкубація для утворення імунокомплексів за типом сендвіча, після осадження в магнітному полі зливається супернатант і виконується ще один цикл відмивання. Після цього додаються стартери 1 і 2 для запуску хемілюмінесцентної реакції. Інтенсивність світлового сигналу вимірюється фотоелектронним помножувачем у відносних світлових одиницях (BCO), що є пропорційним до концентрації HBeAg в досліджуваному зразку (або в калібраторі / контрольному зразку, якщо застосовно).

СКЛАД НАБОРУ

Надані матеріали

Компоненти	Вміст	100 тестів (REF: 130210003M)	50 тестів (REF: 130610003M)
Магнітні мікросфери	Магнітні мікросфери, вкриті моноклональними антитілами до анти-HBe, містять бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Калібратор низького рівня	Містить бичачий сироватковий альбумін та отриманий на основі рекомбінантних ДНК HBe-антиген, NaN ₃ (<0,1 %).	3,0 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Калібратор високого рівня	Містить бичачий сироватковий альбумін та отриманий на основі рекомбінантних ДНК е-антиген вірусу гепатиту В, NaN ₃ (<0,1 %).	3,0 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Буфер	Містить бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (<0,1 %).	12,5 мл (mL)	7,5 мл (mL)
Мітка ABE1	Моноклональні антитіла до анти-HBe з мітками ABE1, містять бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (<0,1 %).	12,5 мл (mL)	7,5 мл (mL)
Внутрішній контроль якості	Містить бичачий сироватковий альбумін та отриманий на основі рекомбінантних ДНК е-антиген вірусу гепатиту В, NaN ₃ (<0,1 %).	2,0 мл (mL)	2,0 мл (mL)

Усі реагенти надаються в готовому до використання стані.

Необхідні аксесуари, які не входять до комплексу постачання

Серія MAGLUMI:

Реакційні модулі (пробірки)	REF: 630003
Стартовий реагент 1+2	REF: 130299004M, 130299027M
Концентрат для промивання	REF: 130299005M
Оптичний контроль	REF: 130299006M
Реакційна колба	REF: 130105000101

Аксесуари можна замовити в компанії Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) або її повноважених представників.

КАЛІБРУВАННЯ

Відстеження: цей метод було стандартизовано шляхом порівняння зі стандартом Інституту Пауля Ерліха (Німеччина). Застосування спеціально призначених калібраторів дає змогу адаптувати значення відносних світлових одиниць (ВСО) до відповідної референсної кривої. Результати визначаються за калібрувальною кривою, яка будується залежно від використовуваного інструмента на підставі калібрування за двома точками й референсної кривої (за 10 калібруваннями), що надається на чипі радіочастотної ідентифікації реагенту.

Повторне калібрування потрібно виконати в таких випадках:

- після кожної заміни партії (реагенту або стартера 1 і 2);
- раз на 2 тижні та / або перед початком використання нового набору реагентів (рекомендовано).
- після технічного обслуговування інструмента;
- якщо показники контрольних зразків виходять за межі норми;
- якщо температура в приміщенні змінюється більш ніж на 5 °C (рекомендовано).

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Необхідно дотримуватись урядових нормативів або сертифікаційних вимог щодо інтервалів контролю якості.

Внутрішній контроль якості застосовується лише до систем MAGLUMI. Інструкції з використання й цільові показники наведено в розділі **Контроль якості для е-антигена вірусу гепатиту В (ІХПА)**. Оцінка результатів має здійснюватися виходячи з власних стандартів і досвіду користувача.

Докладну інформацію щодо введення значень для контролю якості можна знайти в інструкції з використання, що додається до повністю асептичного методу, з дотриманням загальноприйнятих застережень щодо венепункції.

Для моніторингу ефективності системи й графіків змін потрібні матеріали для контролю якості серійного виробництва. З контрольними зразками слід поводитися так само, як і зі зразками пацієнта. Рівень ефективності вважається задовільним, якщо значення аналізованих компонентів не виходять за межі допустимого діапазону регулювання, визначеного для системи, або користувацького діапазону, відповідно до схеми контролю якості, складеної у внутрішній лабораторії. Якщо контроль якості показав, що результати виходять за межі норми або встановленого лабораторією діапазону, такі значення не слід заносити до звітів. У такому випадку слід:

- перевірити, чи не сплив термін придатності матеріалів;
- переконатися, що було проведено планове технічне обслуговування;
- упевнитися, що було дотримано інструкцій із використання під час виконання тестів;
- виконати тест повторно, використовуючи свіжі контрольні зразки;
- за потреби звернутися по допомогу до місцевої служби технічної підтримки або дистриб'юторів.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

- Зразки сироватки крові збираються за допомогою стандартних пробірок або пробірок із розділювальним гелем. Кров потрібно збирати асептичним методом, з дотриманням загальноприйнятих застережень щодо венепункції.
- Для отримання найкращих результатів зразки не повинні містити фібрин, еритроцити або інші тверді домішки. Такі зразки можуть давати суперечливі результати, тому мають переноситися до спеціальних центрифужних пробірок і центрифугуватися з відносним прискоренням $\geq 10\,000$ упродовж 15 хвилин.
- Перш ніж починати центрифугування, переконайтеся, що процес коагуляції в зразку повністю завершився. Деякі зразки сироватки, особливо взяті в пацієнтів, що приймають антикоагулянти або тромбофлебіти, можуть потребувати більше часу для коагуляції.
- Якщо почати центрифугування до повної коагуляції, присутність фібрину в зразку може призвести до отримання хибних результатів. Зразки не мають містити фібрин або інші тверді домішки.
- Для аналізу не мають використовуватися гемолізовані або високоліпімічні зразки, як і зразки, що містять тверді домішки або мають явні ознаки мікробного забруднення. Усі зразки потрібно перевіряти на наявність бульбашок повітря; для забезпечення оптимального результату бульбашки потрібно видалити перед початком аналізу.
- Центрифужовані зразки з ліпідним шаром на поверхні потрібно перенести в чашу для зразків або в допоміжну пробірку. Переносити очищені зразки до пробірки слід дуже обережно, щоб до неї не потрапив ліпідний матеріал.
- Усі зразки (узяті в пацієнта й контрольні) мають бути проаналізовані протягом 3 годин після завантаження в систему MAGLUMI. З усіма питаннями щодо умов збереження зразків у системі можна звертатися до інформаційної служби компанії SNIBE.
- Зразки, очищені від розділювача, еритроцитів і згустків, можуть зберігатися до 12 годин при температурі 2–8 °C або в замороженому стані до 30 днів при температурі –20 °C чи нижчій.
- Не піддавайте зразки повторному заморожуванню й розморожуванню. Зразки можна заморожувати й розморожувати лише двічі. Після зберігання зразки потрібно ретельно перемішати перед аналізом (у вихровому змішувачі). Заморожені зразки після розморожування потрібно РЕТЕЛЬНО перемішати у вихровому змішувачі на НИЗЬКІЙ швидкості. З усіма питаннями звертайтеся до місцевого представництва компанії SNIBE.
- Перед відправленням зразків рекомендовано очистити їх від згустків, еритроцитів або розділювача. Зразки, призначені для перевезення, мають бути упаковані й промарковані відповідно до застосованих вимог державного, федерального й міжнародного законодавства стосовно транспортування клінічних зразків й інфікованих речовин. Зразки мають транспортуватися в замороженому стані.
- Об'єм зразка, необхідний для одноразового визначення HBeAg, становить 100 мкл (µL).

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ДЛЯ КОРИСТУВАЧІВ

IVD

- Призначено для діагностики *In Vitro*.
- Дотримуйтеся вказівок на вкладиші з інструкцією з використання. Інакше достовірність результатів тесту не гарантується.

Застереження щодо безпеки

- **УВАГА.** Цей виріб передбачає обробку біологічних матеріалів людини. Усі людські біологічні матеріали слід вважати потенційно інфікованими й поводитися з ними відповідно до вимог стандарту 29 CFR 1910.1030 «Професійні ризики, пов'язані з патогенами, що передаються з кров'ю». Під час роботи з матеріалами, що містять або можуть містити інфіковані речовини, слід застосовувати 2-й рівень біологічного захисту або інші відповідні методики біологічної безпеки.
- Усі зразки, біологічні реагенти й матеріали, що використовуються під час проведення тестів, мають вважатися такими, що ймовірно можуть переносити інфекції. Зважаючи на це, утилізувати їх потрібно з дотриманням прийнятих у вашому закладі правил. Утилізацію матеріалів слід здійснювати в безпечний і прийнятний спосіб відповідно до нормативних вимог, виконання яких є пріоритетнішим.
- Цей виріб містить азид натрію. Вміст і контейнери мають бути утилізовані відповідно до вимог місцевих, регіональних і державних нормативів.
- Докладні відомості наведено в паспорті безпечності речовини, що надається на вимогу.

Застереження щодо роботи із системою

- Не використовуйте набір реагентів після закінчення терміну його придатності.
- Не використовуйте компоненти з різних партій або від різних реагентів одночасно.
- Перед першим завантаженням у систему набір реагентів потрібно перемішати, щоб повернути магнітні мікросфери, які осіли під час транспортування, до стану суспензії.
- Інструкції щодо перемішування магнітних мікросфер наведено в розділі цього вкладиша, присвяченому підготовці реагентів.
- Щоб не допустити забруднення, потрібно вдягати чисті рукавички під час роботи з набором реагентів і зразками.
- З часом на прокладці можуть накопичуватися висохлі залишки рідин. Сольовий осад, що утворюється внаслідок цього, не впливає на результат аналізу.
- З усіма питаннями щодо умов роботи із системою можна звертатися до інформаційної служби компанії SNIBE.

ЗБЕРІГАННЯ Й СТАБІЛЬНІСТЬ

- У герметичній упаковці: зберігати при температурі 2–8 °С до кінця терміну придатності.
- У відкритому стані при 2–8 °С: мінімальний термін стабільності – 4 тижні.
- Усередині системи: мінімальний термін стабільності – 4 тижні.
- Для забезпечення максимально ефективного використання набору рекомендовано ставити відкриті набори в холодильник після завершення всіх аналізів протягом дня. Якщо контрольні зразки перебувають у межах норми, можна продовжувати користуватися набором навіть після закінчення терміну зберігання у відкритому стані або в системі.
- Зберігайте набір у вертикальному положенні, щоб у майбутньому полегшити повернення магнітних мікросфер до стану суспензії.
- Бережіть від прямих сонячних променів.

ПОРЯДОК ПРОВЕДЕННЯ ТЕСТУ

Підготовка реагентів

- Ресуспензування магнітних мікросфер відбувається автоматично після завантаження набору, чим забезпечується повне рівномірне відновлення суспензії перед використанням.
- Для отримання максимально ефективних результатів потрібно точно дотримуватись інструкції з використання, що додається до повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI. Кожний параметр тестування визначається за допомогою чипа радіочастотної ідентифікації на наборі реагентів. Докладну інформацію наведено в інструкції з використання, що додається до повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI.

РОЗВЕДЕННЯ

Можливість автоматичного розведення в аналізаторі для цього набору реагентів не передбачена.

Зразки, концентрація яких виходить за межі діапазону вимірювання, можуть бути розведені вручну. Після розведення вручну потрібно помножити результат на коефіцієнт розведення. Використовуйте відповідні розріджувачі або зверніться до компанії SNIBE за консультацією перед виконанням розведення вручну.

ОБМЕЖЕННЯ

- Запорукою отримання достовірних результатів є досконале володіння технікою аналізу й чітке дотримання всіх інструкцій.
- Бактеріальне зараження або теплова інактивація зразків може спотворити результати дослідження.
- Якщо показники перебувають у межах норми, це не виключає наявності захворювання, тому під час інтерпретації слід враховувати загальну клінічну картину й результати інших діагностичних процедур.
- Діагноз не має ґрунтуватися виключно на результатах окремого тесту – потрібно враховувати інші клінічні показники й медичний висновок.
- Усі рішення щодо лікування також мають прийматися з урахуванням умов кожного окремого випадку.
- Зразки, що містять людські антимішачі антитіла (human anti-mouse antibodies, HAMA), можуть давати хибно завищені або занижені значення. У разі надто високої концентрації HAMA в сироватці результати можуть спотворюватися навіть попри додавання агентів для нейтралізації HAMA.

РЕЗУЛЬТАТИ

Розрахунок результатів

Аналізатор автоматично розраховує концентрацію HBeAg у кожному зразку на підставі калібрувальної кривої, яка будується за методом двоточкового калібрування й референсною кривою. Одиницею вимірювання результатів є index/мл (index/mL). Докладну інформацію наведено в інструкції з використання, що додається до повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI.

Інтерпретація результатів

Результати тестів на HBeAg можна інтерпретувати, як описано нижче.

- Відсутність реактивності: значення нижче за 15,0 index/мл (index/mL) (<15,0 index/мл (index/mL)) вважається негативним.
 - Наявність реактивності: значення рівне або вище за 15,0 index/мл (index/mL) (≥15,0 index/мл (index/mL)) вважається позитивним.
- Можливі розбіжності в результатах через відмінності у складі популяції. Рекомендовано в кожній лабораторії визначити власний діапазон нормальних значень.

ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точність

Точність для тестів на HBeAg визначалася відповідно до вимог документа EP5-A2, виданого Інститутом клінічних і лабораторних стандартів (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). У двох окремих паралельних випробуваннях протягом 20 днів досліджувалися 1 контрольний зразок й 3 зразки з різною концентрацією аналізованих компонентів. Результати представлено в наведеній нижче таблиці:

Зразок	Середнє (index/мл (index/mL)) (N = 80)	У межах випробування		Між випробуваннями		Загалом	
		Станд. відх. (index/мл (index/mL))	% коеф. вар.	Станд. відх. (index/мл (index/mL))	% коеф. вар.	Станд. відх. (index/мл (index/mL))	% коеф. вар.
Пул слабопозитивних зразків сироватки	32,190	1,733	5,38	1,607	4,99	2,364	7,34
Пул помірно позитивних зразків сироватки	547,524	29,307	5,35	14,870	2,72	32,864	6,00
Пул високопозитивних зразків сироватки	1205,045	45,219	3,75	31,516	2,62	55,119	4,57
Контрольний зразок	118,354	4,769	4,03	6,139	5,19	7,774	6,57

Аналітична чутливість

<6 index/мл (index/mL)

Межа виявлення являє собою найнижчий рівень аналізованої речовини, яку можна відрізнити від нуля.

Специфічність

Для оцінки перехресної реактивності аналізу на HBeAg використовувалися клінічні негативні зразки HBeAg, що містять потенційні перехресні реагенти, зокрема вірус гепатиту А (HAV), вірус гепатиту С (HCV), ВІЛ, бліду спірохету, антитіла IgG до ВЕБ, ЦМВ, антитіла IgG до вірусу краснухи, антитіла IgG до токсоплазми, ВПГ-1/2, РФ, людські антимішачі антитіла (HAMA), АЯА, підтвержені пробою серійного виробництва з маркуванням ЄС. З усіх потенційних перехресних реагентів жоден не спричинив хибну позитивну відповідь в аналізі на HBeAg.

Видобування

Розглядають калібратор високого рівня для відомої концентрації як зразок, розводять у пропорції 1:2 розчинниками і вимірюють розведену концентрацію 10 разів. Після цього розраховують очікувану концентрацію та показник видобування для виміряної концентрації. Видобування має складати 90–110 %.

Очікувана	Середнє вимірювання	% видобування
1379,59 index/мл (index/mL)	1403,24 index/мл (index/mL)	101,7

Клінічна чутливість

1087 зразків отримано від пацієнтів, інфікованих вірусом гепатиту В, на різних стадіях захворювання. Підсумкова чутливість підтверджених позитивних зразків становить 100 %. Дані дослідження представлено в наведеній нижче таблиці.

Група	Кіл-ть	Наявність реактивності	Кількість підтверджених позитивних
Наперед вибрані позитивні НВеAg	200	200	200
Хронічна інфекція вірусом гепатиту В	682	679	679
Гостра інфекція вірусом гепатиту В	205	200	200
Загалом	1087	1079	1079

Клінічна специфічність

У групі випадково вибраних донорів крові, госпіталізованих пацієнтів і потенційно перехресно-реагуючих зразків крові специфічність тесту на НВе-антиген становила 99,85 %.

Група	Загалом (кільк.)	Наявність реактивності (кільк.)	Відсутність реактивності (кільк.)	Кількість підтверджених позитивних
Неселективні донори	400	0	400	0
Госпіталізовані пацієнти	188	2	186	1
Потенційно перехресно-реагуючі зразки крові	105	1	104	1
Загалом	693	3	690	2

Вплив ендогенних факторів

Речовини, концентрація яких не перевищує вказані нижче значення, не впливають на результат аналізу:

- Білірубін 40 мг/дл (mg/dL)
- Тригліцерид 2000 мг/дл (mg/dL)
- Гемоглобін 1000 мг/дл (mg/dL)

ПОСИЛАННЯ

1. "Hepatitis B Fact sheet". World Health Organization. July 2014. Archived from the original on 9 November 2014. Retrieved 4 November 2014.
2. Zuckerman AJ (1996). "Hepatitis Viruses". In Baron S; et al. Baron's Medical Microbiology (4th ed.). University of Texas Medical Branch. ISBN 0-9631172-1-1. Archived from the original on 14 July 2009.
3. Kay A, Zoulim F (2007). "Hepatitis B virus genetic variability and evolution". Virus research. 127 (2): 164–176.
4. Buti M, Rodriguez-Frias F, Jardi R, Esteban R (December 2005). "Hepatitis B virus genome variability and disease progression: the impact of pre-core mutants and HBV genotypes". Journal of Clinical Virology. 34 Suppl 1: S79–82.
5. Li W, Miao X, Qi Z, Zeng W, Liang J, Liang Z (2010). "Hepatitis B virus X protein upregulates HSP90alpha expression via activation of c-Myc in human hepatocarcinoma cell line, HepG2". Virol. J. 7: 45.
6. "TSRI - News and Publications". Retrieved 2009-01-03.
7. Hoofnagle J, Di Bisceglie A. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. Semin Liver Dis 1991;11:73–83.
8. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. page 2062.
9. Rima Fawaz, Maureen M. Jonas, in Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease, Chapter75: Acute and Chronic Hepatitis, (Fourth Edition), 2011.



Шеньчжень Нью Індустріз Біомедікал Інжинірінг Ко., Лтд.

№23 Джіньсіу Еаст Роад, Пінгшан Дістрікт, 518122 Шеньчжень, Китайська Народна Республіка
Тел: +86 755 21536601 Факс: +86 755 28292740



UA.TR.116

Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «Кратія Медтехніка», вул. Багговутівська, 17-21, 04107, м. Київ, Україна.

Тел.: 0 800 21-52-32 (безоплатно можуть

телефонувати абоненти фіксованого та мобільного телефонного зв'язку з будь-якої точки України).

Електронна пошта: uaep@cratia.ua

ЗНАЧЕННЯ СИМВОЛІВ

	Див. інструкцію з використання		Виробник
	Температурний діапазон (зберігати при температурі 2–8 °C)		Кінцева дата терміну придатності
	Вмісту достатньо для <n> тестів		Бережіть від прямих сонячних променів
	Цим боком догори		Склад набору
	Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i>		Код партії
	Номер за каталогом		Знак відповідності технічним регламентам

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: червень 2020 року.