

Skaityti paryškintus pakeitimus: 2019 m. balandžio mėn. redakcija.

REF 08P1022

08P1032

Atidžiai laikytis pateiktų nurodymų. Negalima užtikrinti tyrimo rezultatų patikimumo, jeigu nesilaikoma pateiktų nurodymų.

PAVADINIMAS

Alinity i HBsAg Qualitative II Reagent Kit (taip pat vadinamas HBsAg Qual)

PASKIRTIS



Alinity i HBsAg Qualitative II tyrimas yra chemiliuminescencijos mikrodalelių imunoanalizė (CMIA), naudojama hepatito B paviršiniame antigenui (HBsAg) žmogaus serume ir plazmoje, taip pat mėginiuose, paimtuose po mirties (neplakant širdžiai), kokybiškai nustatyti analizatoriumi Alinity i.

Alinity i HBsAg Qualitative II tyrimas yra skirtas naudoti HBV infekcijos diagnostikai ir atrankiniams tyrimams siekiant neperduoti HBV kraujo, kraujo komponentų, ląstelių, audinių ir organų recipientams.

PROCEDŪROS BIOLOGINIAI PRINCIPAI

Šis tyrimas yra vieno etapo imunoanalizė, skirta HBsAg žmogaus serume ir plazmoje, taip pat mėginiuose, paimtuose po mirties (neplakant širdžiai), kokybiškai nustatyti, kurią atliekant naudojama chemiliuminescencijos mikrodalelių imunoanalizės (CMIA) technologija.

(Pastaba. Antrosios inkubacijos metu sulašinamas papildomas plovimo buferis (*Ancillary Wash Buffer*), todėl tyrimo failas atitinka dviejų etapų tyrimo protokolą).

Reakcijos mišiniui gauti sumaišomas ir inkubuojamas mėginys, anti-HBs padengtos paramagnetinės mikrodalelės ir anti-HBs akridinu žymėtas konjugatas. Mėginyje esantis HBsAg susiriša su anti-HBs dengtomis mikrodalelėmis ir anti-HBs akridinu žymėtu konjugatu. Po plovimo ciklo į reakcijos mišinį įlašinama papildomo plovimo buferio. Po kito plovimo ciklo sulašinami pretrigerio (*Pre-Trigger Solution*) ir trigerio (*Trigger Solution*) tirpalai.

Chemiliuminescencijos reakcijos rezultatas matuojamas santykiniais šviesos vienetais (RLU). Tarp mėginyje esančio HBsAg kiekio ir sistemos optikos nustatytų santykinų šviesos vienetų yra tiesioginis ryšys.

RR = pakartotinai reaktyvūs, PI = pasiklivimo intervalas
^a Apima 13 mutantų su Thr-123-Ala ir (arba) Gly-145-Arg mutacijomis.

HBsAg mutantų aptikimas

Hepatito B virusas, priešingai nei kiti DNR virusai, replikuoja si atvirkštinės transkripcijos būdu. Atvirkštinės transkripcijos metu nevyksta transkripcijos tikrinimas ir taisymas, todėl HBV mutacijos yra 10 kartų dažnesnės nei kitų DNR virusų. Dėl kai kurių iš šių mutacijų gali pasikeisti HBsAg antigeninė struktūra, todėl anti-HBs nebegali atpažinti epitopų. Yra duomenų apie HBsAg mutantus įvairiose pacientų populiacijose, tarp jų kraujo donorų, vakcinų recipientų, inkstų dializės pacientų, ortotopinių kepenų transplantacijos pacientų, HBsAg teigiamų moterų naujagimių ir pacientų, gydomų nuo HBV nukleozidų analogais.²²⁻²⁹ Dėl HBsAg mutacijų kai kurių pacientų gydymo rezultatai gali būti mažiau palankūs^{22, 23, 25}, o kai kurių HBsAg tyrimų rezultatai – klaidingai neigiami²²⁻²⁴.

68 mėginių grupę sudarė dvi rekombinantinės laukinio tipo kontrolės ir 65 skirtingi rekombinantinio HBsAg mutantų mėginiai. Vienos mutacijos struktūra buvo bendra dviem mėginių grupės nariams; 113 mutantas (JPA) ir 104 mutantas pasižymi identiška mutacijos struktūra. Visi mutantų mėginiai buvo rekombinantinis antigenas su aminorūgščių sekomis, reprezentuojančiomis natyvinius hepatito B s antigeno mutantus. Iš 66 rekombinantinių mutantų mėginių 57-iose buvo pakeitimų arba įterpimų „a“ determinantės regione nuo 120–145 aminorūgšties. Mėginių grupėje buvo 28 mėginiai su vienu pakeitimu, 12 mėginių su dviem pakeitimais, 21 mėginys su 3–12 pakeitimų ir 5 mėginiai su s antigeno įterpimais po 122 arba 123 aminorūgšties. Visi mėginiai buvo praskiesti rekalcifikuota neigiama žmogaus plazma iki ARCHITECT HBsAg Qual II tyrimo silpno reaktyvumo S/CO lygių. Šioje mutantų grupėje buvo 13 HBsAg mutantų su Thr-123-Ala ir (arba) Gly-145-Arg mutacijomis.

Analitinis jautrumas

Analitinis jautrumas įvertintas naudojant PSO antrojo tarptautinio HBsAg standarto (2003 m.) (adw2 potipis, A genotipas, NIBSC kodas: 00/588) serijinius praskiedimus. Praskiedimų intervalas – nuo 5 iki 40 mIU/mL. Rekalcifikuota neigiama žmogaus plazma buvo naudota kaip skiediklis. Praskiedimai buvo ištirti 3 reagentų partijomis ir 1 Alinity i instrumentu. 3 partijų analitinis jautrumas buvo nuo 19.93 iki 20.87 mIU/mL.



Jautrumas

Tyrimas buvo atliktas remiantis CLSI EP12-A2 rekomendacijomis.²¹ Naudojant Alinity i HBsAg Qualitative II tyrimo metodą ir ARCHITECT HBsAg Qualitative II tyrimo metodą buvo ištirti 496 toliau nurodytų kategorijų mėginiai: HBV genotipų (A–F, H), ūminės HBV infekcijos, lėtinės HBV infekcijos, žinomi stipriai teigiami mėginiai, žinomi silpnai teigiami mėginiai, kiti HBsAg teigiami mėginiai ir HBsAg mutantų grupė. Nustatyta, kad bendras Alinity i HBsAg Qualitative II tyrimo jautrumas buvo 100% (496/496), o dvipusis 95% pasiklivimo intervalas – nuo 99.26 iki 100.00%. Nustatyta, kad bendras ARCHITECT HBsAg Qualitative II tyrimo jautrumas buvo 99.80% (495/496), o dvipusis 95% pasiklivimo intervalas – nuo 98.88 iki 99.99%.

Mėginio kategorija	n	Alinity i HBsAg Qualitative II			ARCHITECT HBsAg Qualitative II	
		RR (%) bendro skaičiaus	Jautrumas	95% PI	Jautrumas	95% PI
A, B, C, D, E, F, H genotipai	47	47 (100%)	100% (47/47)	92.45–100.00	100% (47/47)	92.45–100.00
Ūminė HBV infekcija	25	25 (100%)	100% (25/25)	86.28–100.00	100% (25/25)	86.28–100.00
Lėtinė HBV infekcija	72	72 (100%)	100% (72/72)	95.01–100.00	100% (72/72)	95.01–100.00
Stipriai teigiamas	210	210 (100%)	100% (210/210)	98.26–100.00	100% (210/210)	98.26–100.00
Silpnai teigiamas	22	22 (100%)	100% (22/22)	84.56–100.00	100% (22/22)	84.56–100.00
Kitas HBsAg teigiamas	52	52 (100%)	100% (52/52)	93.15–100.00	98.08% (51/52)	89.74–99.95
HBsAg mutantų grupė ^a	68	68 (100%)	100% (68/68)	94.72–100.00	100% (68/68)	94.72–100.00