

Anti-HCV

Anticorpo contra o vírus da hepatite C (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
Anti-HCV111	2 ×50 testes
Anti-HCV112	2 ×100 testes

Uso pretendido

O ensaio de anti-HCV da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação qualitativa de anticorpo contra o vírus da hepatite C (anti-HCV) sérico ou plasmático humano.

Resumo

O vírus da hepatite C (HCV) é um vírus de RNA de fita única positivo e envelopado que foi classificado como sendo um gênero da família de Flaviviridae. É a causa mais comum de patógenos transmitidos pelo ar¹⁻³, bem como de hepatite não A e não B adquirida na comunidade em todo o mundo⁴. O genoma de HCV consiste em ~9,5 kb de codificação para um polipeptídeo de 3.000 aminoácidos de domínios estruturais e não estruturais⁵. Como outros vírus de RNA, demonstra uma heterogeneidade substancial como resultado de mutações que ocorrem durante a replicação viral. A presença de anti-HCV indica que uma pessoa pode ter sido infectada com HCV, pode ter HCV infecciosa não manifesta e/ou pode ser capaz de transmitir infecção por HCV⁶. Testes de anticorpos anti-HCV são usados isoladamente ou em combinação com outros testes (por exemplo, HCV-RNA) para detectar uma infecção com vírus da hepatite C e para identificar sangue e produtos hemoderivados de indivíduos infectados com HCV.

Princípios do ensaio

O ensaio de anti-HCV da série CL é um ensaio sanduíche de duas etapas para determinar o nível de anticorpos contra o vírus da hepatite C.

Na primeira etapa, amostra, solução de tratamento de amostra, micropartículas paramagnéticas revestidas com antígeno de HCV recombinante são adicionadas em uma cubeta de reação. Depois da incubação, os anticorpos contra HCV presentes na amostra se ligam a antígenos de HCV revestidos nas micropartículas. Depois, as micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por lavagem.

Na segunda etapa, a solução diluente e a fosfatase alcalina identificada como conjugado de anticorpo monoclonal de IgG anti-humano são adicionadas na cubeta de reação. Depois da incubação, o conjugado de anticorpo monoclonal de IgG anti-humano se liga a anticorpos anti-HCV capturados nas micropartículas. As micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por

lavagem.

Na terceira etapa, a solução do substrato é adicionada à cubeta de reação. Ela é catalisada pela fosfatase alcalina 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. Há uma relação direta entre a quantidade de anticorpos anti-HCV na amostra e as RLUs geradas durante a reação.

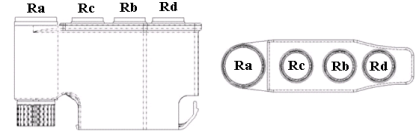
A presença ou a ausência de anticorpos anti-HCV na amostra é determinada pela comparação do sinal de quimioluminescência da reação ao sinal de corte determinado pela calibração do sistema. Um índice de corte (COI, cutoff index) é calculado por RLU da amostra/RLU de ponto de corte.

Componentes reagentes

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

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com antígenos de HCV recombinantes no tampão MES com conservante.
Rb	Fosfatase alcalina rotulada como conjugado de anticorpo monoclonal de IgG anti-humano no tampão MES com conservante.
Rc	Diluentes de amostra no tampão HEPES com conservante.
Rd	Tampão MES 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 reagente anti-HCV (CLIA) fechado fica estável até um ano quando armazenado em temperaturas entre 2 °C e 8 °C. A data de validade real é indicada no rótulo.

O reagente de anti-HCV (CLIA) pode ser armazenado onboard a temperaturas entre 2 °C e 8 °C e usado por no máximo 28 dias após a abertura.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Rc: Pronto para usar

Rd: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Cat. N° Anti-HCV211: Calibradores de anti-HCV, 1 × 2,0 mL para cada nível de calibrador C0 e C1

Cat. N° Anti-HCVN311: Controle negativo anti-HCV, 3×2,0 mL

Cat. N° Anti-HCVN312: Controle negativo anti-HCV, 6×2,0 mL

Cat. N° Anti-HCVP311: Controle positivo anti-HCV, 3×2,0 mL

Cat. N° Anti-HCVP312: Controle positivo anti-HCV, 6×2,0 mL

Cat. N° CS511: Solução de substrato, 4 × 115 mL

Cat. N° WB411: Tampão de lavagem

Frasco de reação

Sistema do equipamento

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Coleta e preparação do espécime

Espécimes de soro e plasma humanos coletados em heparina sódica e heparina de lítio são recomendáveis para este ensaio.

Colete todas as amostras de sangue seguindo precauções de rotina para punção venosa. Siga as recomendações de centrifugação do fabricante do tubo de coleta de sangue. Centrifugue as amostras após a conclusão da formação de coágulos. Algumas amostras, principalmente aqueles de pacientes que recebem terapia anticoagulante podem apresentar maior tempo de coagulação. Certifique-se de que a fibrina residual e a matéria celular sejam removidas antes da análise.

Para obter resultados ideais, veja se há bolhas em todas as amostras. Remova as bolhas com a ponta de uma pipeta antes da análise. As amostras devem ser completamente misturadas após descongelamento. Amostras descongeladas devem ser centrifugadas antes do uso. Se a amostra estiver coberta com uma camada lipídica após a centrifugação, essa amostra deverá ser transferida para um tubo limpo antes do teste. Não transfira a camada lipídica. Manuseie com cuidado para evitar a contaminação cruzada. Não use amostras grosseiramente hemolizadas. Não use amostras inativadas por calor.

As amostras devem ser testadas assim que possível, após a coleta da amostra. Se a testagem não for realizada em 8 horas, as amostras deverão ser armazenadas a 2~8 °C ou em temperatura mais fria. As amostras devem ficar estáveis por 7 dias a 2~8 °C, 3 meses a -20°C. Evite mais de cinco ciclos de congelamento.

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-HCV 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. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas estão em suspensão de novo. Se as micropartículas permanecerem coladas no frasco, continue invertendo até que elas sejam totalmente ressuspensas. 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 20 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

As informações de calibração são armazenadas no código de barras anexado no pacote de reagente e calibrador. Ao realizar a calibração, verifique as informações dos códigos de barras no sistema primeiro, e depois teste os calibradores em dois níveis. É necessário calibrar antes de qualquer teste de anti-HCV. 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

Para verificar a confiabilidade do sistema do ensaio, os controles de qualidade devem ser executados pelo menos uma vez a cada 24 horas, após o carregamento de um novo pacote de reagente ou depois de cada calibração. Os controles de qualidade recomendados para este ensaio são Controle negativo anti-HCV e Controle positivo anti-HCV 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 retestadas. Talvez seja necessário recalibrar. Consulte o manual de operação do sistema para verificar o sistema. 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 da série CL calcula automaticamente RLU de corte usando a RLU média de três réplicas do calibrador C0 e duas réplicas do calibrador C1 e armazena os resultados. Em seguida, o analisador calcula o resultado de anti-HCV com base na RLU de corte com o cálculo a seguir.

RLU de corte = [(RLU média de C1 - RLU média de C0) × Coeficiente de calibração] + RLU média de C0.

O coeficiente de calibração é específico para cada combinação de lote do kit de reagente e lote do calibrador.

COI = RLU de amostra/RLU de corte.

Interpretação dos resultados

As amostras com COI < 1,00 são não reativas no ensaio de anti-HCV da Mindray. Essas amostras não precisam de mais testes.

As amostras com COI ≥ 1,00 são inicialmente reativas no ensaio de anti-HCV da Mindray. Todas as amostras inicialmente reativas devem ser transferidas para um tubo de centrifugação e centrifugadas a ≥ 10.000 RCF (força centrífuga relativa) por 10 minutos e, em seguida, testadas em duplicata. Se COI < 1,00 em ambos os retestes, a amostra será considerada como não reativa para anti-HCV. Se COI for > 1,00 em um dos retestes, a amostra será considerada várias vezes reativa para anti-HCV.

As amostras várias vezes reativas devem ser investigadas por testes suplementares, como outros imunoenaios específicos de HCV e ensaios de imunoblot ou uma combinação deles e/ou de testes NAT.

Limitação de medida

O resultado de anti-HCV em determinada amostra pode variar em ensaios de fabricantes diferentes devido às diferenças nos métodos do 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

Sensibilidad.

400 amostras foram consideradas positivas para anti-HCV por métodos de referência. O ensaio de anti-HCV da Mindray no sistema CL-2000i detectou 399 amostras como positivas e 1 amostra como negativa. A taxa de coincidência positiva é de 99,75%.

Precisão

O ensaio de anti-HCV 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-A2⁷. 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-HCV (COI)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
Controle negativo	0,21	2,09%	5,34%	8,09%
Controle positivo	3,93	2,48%	1,69%	3,34%

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicérides até 3000 mg/dL e proteína total até 10 g/dL não vão interferir com o ensaio de anti-TP da série CL. Com essas substâncias na concentração indicada, a diferença é < 0,1 COI nas amostras negativas e < 10% COI nas amostras positivas.

Nenhuma interferência óbvia foi observada do fator reumatoide (até 1000 IU/mL) ou anticorpo antinuclear.

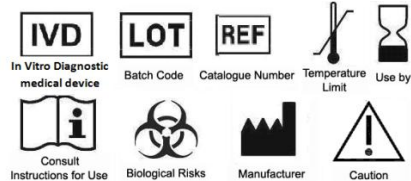
O ensaio de anti-HCV da Mindray foi avaliado quanto a possíveis substâncias com reação cruzada em indivíduos com condições médicas não relacionadas à infecção por HCV. Pelo menos 5 amostras contendo cada uma a substância potencialmente interferente seguinte (HAV, HEV, HBV, CMV, HSV, HIV-1/2, Toxo, RV, TP, EBV, *E.coli*) são testadas pelo kit anti-HCV da Mindray e um kit de reagente de referência. Todos os resultados são consistentes entre o ensaio da Mindray e o ensaio de referência.

623 amostras foram consideradas negativas para anti-HCV por métodos de referência. O ensaio de anti-HCV no sistema Mindray CL-2000i detectou 621 amostras como negativas e 2 amostras como positivas. A taxa de coincidência negativa é de 99,68%.

Aviões 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. Alter HJ, et al. Detection of Antibody to Hepatitis C Virus in Prospectively Followed Transfusion Recipients with Acute and Chronic Non-A, Non-B Hepatitis. N Engl J Med 1989; 321:1494-500.
2. Esteban JI, et al. Hepatitis C Virus Antibodies Among Risk Groups in Spain. Lancet 1989; ii:294-7.
3. Aach RD, et al. Hepatitis C Virus Infection in Post-Transfusion Hepatitis: An Analysis with First- and Second-Generation Assays. N Engl J Med 1991;325:1325-9.
4. Alter MJ, et al. Risk Factors for Acute Non-A, Non-B Hepatitis in the United States and Association with Hepatitis C Virus Infection. JAMA 1990;264:2231-5.
5. Major ME, Feinstone SM. The Molecular Virology of Hepatitis C. Hepatology 1997; 25(6):1528-1538.
6. Choo QL, et al. Hepatitis C Virus: The Major Causative Agent of Viral Non-A, Non-B Hepatitis. Br Med J 1990;46:423-41.
7. 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