

# Anti-HBc

## Anticorpo contra o antígeno de núcleo da hepatite B (CLIA)

### Informações do pedido

| Número de catálogo | Tamanho de embalagem |
|--------------------|----------------------|
| Anti-HBc111        | 2 ×50 testes         |
| Anti-HBc112        | 2 ×100 testes        |

### Uso pretendido

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

### Resumo

O antígeno de núcleo da hepatite B (HBcAg) é uma proteína estrutural do vírus da hepatite B (HBV) e compreende 183 a 185 aminoácidos com forte imunogenicidade. Após a infecção por HBV, os anticorpos contra o antígeno do núcleo da hepatite B (anti-HBc) podem ser detectados no sangue periférico logo após o aparecimento de HBsAg, e frequentemente persistem por toda a vida. Da mesma forma, o anti-HBc é um indicador de infecção aguda ou anterior. A determinação de anti-HBc em associação com outros marcadores sorológicos de HBV permite fazer o diagnóstico e o monitoramento de infecção por HBV. Na ausência de outros marcadores de HBV, o anti-HBc pode ser o único indicador de uma infecção por HBV contínua ou anterior<sup>1-5</sup>.

### Princípios do ensaio

O ensaio de anti-HBc da série CL é um ensaio de ligação competitiva para determinar o nível de anticorpo contra o antígeno de núcleo da hepatite B

Na primeira etapa, a amostra, a solução de tratamento de amostra e o reagente neutralizante são condicionados em um frasco de reação. Após a incubação, o anti-HBc na amostra se ligará ao HBcAg recombinante (rHBcAg) do reagente de neutralização.

Na segunda etapa, micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpos monoclonais de anti-HBc específicos (IgG de camundongo) e outro conjugado de anticorpo monoclonal de anti-HBc identificado como fosfatase alcalina (ALP) (IgG de camundongo) são condicionados no frasco de reação. Após a incubação, o rHBcAg circulante se liga ao anticorpo monoclonal de anti-HBc revestido com micropartículas e outro anticorpo monoclonal de anti-HBc identificado com ALP para formar um complexo (micropartícula anti-HBc MAb) - rHBcAg- (anti-HBcMAb-ALP). Depois, as micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por lavagem.

Na terceira etapa, a solução do substrato é adicionada ao frasco de reação. O substrato é catalisado pela ALP 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 anti-HBc na amostra e as RLUs geradas durante a reação.

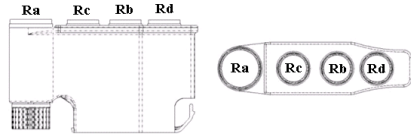
A presença ou a ausência de anti-HBc na amostra é determinada pela comparação do sinal de quimioluminescência da reação ao sinal de corte determinado pela calibração. Se o sinal de quimioluminescência da reação for menor do que o sinal de corte (COI≤1,0), a amostra será considerada reativa para anti-HBc. Se o sinal de quimioluminescência da reação for maior do que o sinal de corte (COI>1,0), a amostra será considerada não reativa para anti-HBc.

### 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 o anticorpo monoclonal anti-HBc (IgG de camundongo) no tampão TRIS com conservante. |
| Rb | Fosfatase alcalina identificada como anticorpo monoclonal anti-HBc (IgG do camundongo) no diluente com conservante.               |
| Rc | HBcAg recombinante (rHBcAg) no tampão TRIS com conservante.                                                                       |
| Rd | Solução de tratamento de amostra 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 kit de reagentes de anti-HBc fechado é estável até a data de vencimento indicada no rótulo quando armazenado em temperaturas entre 2 °C e 8 °C. A data de validade real está presente no rótulo.

O reagente de anti-HBc 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. Nº Anti-HBc211: Calibradores de anti-HBc, 1 × 2,0 mL para cada nível de calibrador C0 e C1

Cat. Nº Anti-HBcN311: Controle negativo anti-HBc, 3×2,0 mL

Cat. Nº Anti-HBcN312: Controle negativo anti-HBc, 6×2,0 mL

Cat. Nº Anti-HBcP311: Controle positivo anti-HBc, 3×2,0 mL

Cat. Nº Anti-HBcP312: Controle positivo anti-HBc, 6×2,0 mL

Cat. Nº CS511: Solução de substrato, 4 × 115 mL

Cat. Nº WB411: Tampão de lavagem

Frasco de reação

### Sistema do equipamento

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

### Coleta e preparação do espécime

O soro humano é recomendável para este ensaio. Centrifugue as amostras a 3.500 rpm por no mínimo 10 minutos após a formação do coágulo ser concluída. As amostras devem ser testadas assim que possível após a coleta da amostra e o tratamento pré-analítico. Teste as amostras dentro de duas horas após a centrifugação. Caso o teste não seja concluído em 24 horas, transfira o sobrenadante para tubos para armazenamento. As amostras deverão ser fechados e refrigerados a 2~8°C. Se os testes forem ser atrasados por mais de 7 dias, as amostras deverão ser congeladas a -20°C ou abaixo.

Evite ciclos repetidos de congelamento e descongelamento, que podem deteriorar a amostra. A amostra pode ser usada depois de, no máximo, cinco ciclos de congelamento e descongelamento.

Não use a amostra com as seguintes condições:

- Inativada por calor
- Maciçamente hemolisada
- Com contaminação microbiana evidente
- Com fibrina ou outros resíduos celulares visíveis

### 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-HBc 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. Inspeccione 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 50 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-HBc. 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

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada aos requisitos individuais de cada laboratório. Os controles de qualidade recomendados para este ensaio são Controle negativo anti-HBc e Controle positivo anti-HBc 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 série CL calcula a média dos sinais de RLU de testes repetidos de ambos os calibradores C1 e C0.

O analisador série CL calcula o resultado de anti-HBc com base na proporção de RLU de amostra para RLU de corte (índice de corte, COI) de cada espécime e controle.

RLU de corte= RLU média de C0 - [(RLU média de C0 - RLU média de C1) × coeficiente de calibração]

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

COI = RLU de amostra/RLU de corte

### Interpretação dos resultados

1. As amostras com COI de anti-HBc>1,00 são não reativas. Essas amostras são considerados negativas para anti-HBc, e não precisam de mais testes.

2. As amostras com COI de anti-HBc≤1,00 são inicialmente reativas.
3. As amostras inicialmente reativas com COI de anti-HBc entre 0,60 e 1,00 precisam ser repetidas. As amostras devem ser transferidas a um tubo de centrifugação e centrifugadas a ≥10.000 RCF (força centrífuga relativa) por 10 minutos, e retestadas em duplicata com o kit Anti-HBc da Mindray.

As amostras inicialmente reativas com um COI >1,00 em ambos os retestes são consideradas como não reativas, além de serem negativas para anti-HBc. Nenhum teste adicional é necessário.

As amostras inicialmente reativas com um COI ≤1,00 em ambos os retestes são considerados como várias vezes reativas.

As amostras várias vezes reativas, bem como as amostras inicialmente reativas com um COI <0,6 devem ser confirmadas de acordo com os algoritmos confirmatórios recomendados.

Limitação de medida

O resultado de anti-HBc em determinada amostra pode variar com 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

Sensibilid.

A sensibilidade do ensaio Anti-HBc série CL no ponto de corte é ≤ 0. 6 PEI U/mL.

449 amostras foram consideradas positivas para anti-HBc por métodos de referência. O ensaio de anti-HBc no sistema Mindray CL2000i detectou todas as amostras como positivas, com a taxa de coincidência positiva em 100%.

Precisão

O ensaio de anti-HBc 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-A2<sup>6</sup>. 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-HBc (COI) | Dentro do CV da execução | Entre o CV da execução | Dentro do CV do dispositivo |
|-------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------------|
| Controle negativo | 2,79                    | 2,92%                    | 3,62%                  | 6,45%                       |
| Controle positivo | 0,42                    | 2,68%                    | 3,85%                  | 5,96%                       |

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicerídeos até 20 mg/dL, proteína total até 10 g/dL, fator reumatoide (RF) até

1.500 IU/mL, anticorpo anti-DNA (ANA) até 2.000 U/L e Anticorpo humano anticamundongo (HAMA) não interferem no ensaio de anti-HBc. Essas substâncias mostram menos de 10% de interferência nas concentrações indicadas.

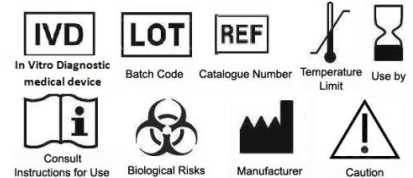
O Kit de anti-HBc da Mindray foi avaliado quanto a possíveis substâncias com reação cruzada em indivíduos com condições médicas não relacionadas à infecção por HBV. Pelo menos 5 amostras contendo cada um dos patógenos potencialmente interferentes seguintes (HAV, HCV, HEV, HGV, HIV-1/2, TP, EBV, RV, CMV,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

1016 amostras foram consideradas negativas para anti-HBc por métodos de referência. O kit de ensaio de anti-HBc no sistema Mindray CL-2000i detectou 1014 amostras como negativas e 2 amostras como positivas. A taxa de coincidência negativa é de 99,80%.

Avisos e precauções

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- Siga todas as regras ao manusear reagentes de laboratório e adote as precauções de segurança necessárias.
- 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.
- Não use kits de reagentes com a data de expiração vencida.
- Não use reagentes misturados de lotes diferentes.
- Sempre mantenha o pacote de reagente na posição vertical para assegurar que nenhuma micropartícula seja perdida antes do uso.
- Não é recomendável usar o pacote de reagente aberto a mais de 28 dias.
- A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida se as instruções no encarte deste pacote não forem seguidas.
- Todos os espécimes e detritos de reação devem ser considerados potencialmente perigosos. As amostras e os detritos de reação devem ser manuseados de acordo com os regulamentos e diretrizes locais.
- A folha de dados de segurança de material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos Gráficos



Bibliografia

- Kozioł DE, Holland PV, Alling DW, et al. Antibody to Hepatitis B Core Antigen as a Paradoxical Marker for Non-A, Non-B Hepatitis Agents in Donated Blood. *Ann Internal Med* 1986; 104:488–495.
- Boscato,LM and Sturat, MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27.
- Szmunness W, Hoofnagle JH, Stevens CE, et al. Antibody against the hepatitis type B core antigen:A new tool for epidemiologic studies. *Am J Epidemiol* 1976; 104: 256-262.
- Hoofnagle JH, Seeff LB, Buskell-Bales Z, et al. Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. *N Engl J Med* 1978; 198: 1379-1383.
- Kumar S, Pound DC, Serologic diagnosis of viral hepatitis. *Postgraduate Medicine* 1992;92:55-65
- 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