

Anti-HBc Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: 4010

ANVISA 10009010463

REF 4010-50, 50 testes/kit

REF 4010-100, 100 testes/kit

Uso pretendido . Detecção qualitativa de anti-HBc em soro ou plasma humanos, utilizado clinicamente para auxílio no diagnóstico, monitoramento e prognóstico da infecção viral da hepatite B.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro]

Analísador . Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo . O Vírus da Hepatite B (VHB) causa infecção hepática crônica persistente em humanos¹. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2019, 296 milhões de pessoas foram acometidas pelo VHB e desenvolveram hepatite B crônica. A hepatite B viral crônica possui alta taxa de mortalidade e, em 2019, levou a óbito cerca de 820.000 pessoas, devido a complicações da infecção, como por cirrose, câncer de fígado e doença hepática em estágio terminal.²

O anticorpo 'core' é o anticorpo específico produzido após a infecção humana pelo VHB. Este anticorpo pode ser encontrado no soro por um longo período de tempo, sendo um sinal de infecção aguda pelo VHB e posterior infecção crônica³. Os anticorpos anti-HBc são chamados de "marcadores epidemiológicos" e, portanto, o diagnóstico do anti-HBc desempenha um papel crucial na detecção, acompanhamento e triagem da infecção pelo VHB^{4,5}.

O teste de anti-HBc é parte integrante da triagem de doadores de sangue e órgãos para evitar a transmissão do VHB, pois a detecção de anti-HBc em um possível doador indica uma infecção prévia pelo VHB, mesmo que a infecção tenha sido tratada⁶. A correta interpretação dos resultados do teste de anti-HBc são essenciais para a gestão clínica adequada dos pacientes e para a prevenção da disseminação da infecção pelo VHB.⁷

Princípio do teste . O ensaio Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010, é um imunoensaio de duas etapas para a detecção qualitativa de anti-HBc em soro ou plasma humano, usando a tecnologia de análise por quimioluminescência (CLIA).

Na primeira etapa, a amostra, o diluente e as micropartículas paramagnéticas revestidas com antígeno recombinante HBc são combinados e incubados. O anti-HBc presente na amostra liga-se ao antígeno HBc e então, ocorre o ciclo de lavagem. Na segunda etapa, o conjugado anticorpo anti-humano marcado com acridina é adicionado. O anticorpo marcado com acridina livre é removido por outro ciclo de lavagem.

Na terceira etapa, as soluções de Pre-Trigger e Trigger, são então adicionadas à mistura e a reação quimioluminescente resultante é medida como Unidades Relativas de Luz (RLUs).

A presença ou ausência de anticorpos anti-HBc na amostra é determinada usando a média da RLU dividida pelo valor de cut-off (S/CO), para cada amostra e controle. Os reagentes são calibrados por uma *Master Curve*, disponibilizada via *QR Code* e ajustada ao analisador por meio de 2 calibradores que acompanham o kit.

Reagentes

Reagentes - soluções de trabalho

REF	4010-50	4010-100
Testes por kit	50	100
R11	6,0 mL	11,0 mL
R12	3,0 mL	5,0 mL
M	3,5 mL	6,0 mL
CAL11	0,5 mL	0,5 mL
CAL12	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL11	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL12	0,5 mL	0,5 mL
Tampas de silicone	3	3

R11 - Anticorpo anti-humano ≤ 35 ng/mL marcado com acridina $\leq 0,27$ pg/mL em tampão fosfato $\leq 15,54$ mg/mL, surfactante, estabilizadores de proteína e conservante.

R12 - Tampão fosfato $\leq 6,24$ mg/mL, surfactante, bloqueador, estabilizadores de proteínas e conservante.

M - Micropartículas revestidas $\leq 1,36$ mg/mL com HBcAg conjugado com biotina $\leq 1,40$ µg/mL em tampão $\leq 15,27$ mg/mL, surfactante, estabilizadores de proteína e conservante.

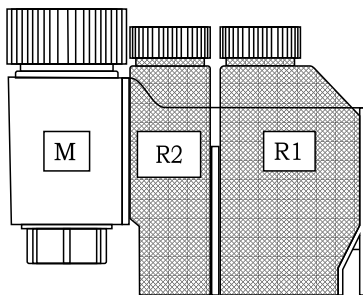
CAL11 - Tampão TRIS $\leq 8,65$ mg/mL, surfactante, estabilizadores de proteína e conservante.

CAL12 - Anticorpo Anti-HBc em tampão TRIS $\leq 8,65$ mg/mL, surfactante, estabilizadores de proteína e conservante.

CONTROL11 - Controle Negativo: Tampão TRIS $\leq 8,65$ mg/mL, surfactante, estabilizadores de proteína e conservante.*

CONTROL12 - Controle Positivo: Anticorpo Anti-HBc em tampão TRIS $\leq 8,65$ mg/mL, surfactante, estabilizadores de proteína e conservante.*

*Para média e intervalo ver item Valores especificados para os controles.



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico in vitro.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manipular todos reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.
- Ficha de segurança disponível no site www.labtest.com.br.
- Evite formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostra, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados corretos.
- Não misture lotes de reagentes.
- Realizar a calibração do produto conforme o tópico "Calibração".
- Não utilizar o produto caso sejam observados sinais de contaminação.
- As cubetas são descartáveis e não devem ser reutilizadas.
- Não manusear o Reagent M próximo a campos eletromagnéticos intensos.
- Não separar o volume de nenhum dos componentes do kit em aliquotas.

Precauções de segurança

Cuidado . Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitam infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspensas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Substitua a tampa original dos reagentes R1, R2 e M pelas tampas de silicone antes de inserir a rack de reagentes no equipamento.
4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e armazenamento do kit.
5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.
6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos

de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Armazenamento e estabilidade . Não congele. Armazene o Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010 **na posição vertical** para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento da rack de reagentes, realizar nova calibração e conferir a recuperação dos valores dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade:

Fechado a 2 - 8 °C	até a data de validade apresentada
Aberto a 2 - 8 °C	45 dias
On board	28 dias

Indicações de deterioração dos reagentes . A deterioração dos reagentes pode ser indicada quando ocorre um erro de calibração ou um valor de controle está fora da faixa especificada. Os resultados dos testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente após uma nova calibração.

Coleta e preparação de amostras . Utilizar soro coletado em tubos com e sem gel separador. Utilizar plasma coletado com EDTA e heparina. As amostras são estáveis por 2 dias a 20 - 25 °C, 7 dias a 2 - 8 °C, 3 meses a -20 °C (± 5 °C).^{8,9}

Centrifugue as amostras contendo precipitados antes de realizar o ensaio. Para obter resultados exatos, as amostras de soro devem estar livres de fibrina, hemácias e outras partículas. As amostras de soro de pacientes recebendo terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina devido à formação incompleta do coágulo. Certifique-se de que as amostras, calibradores e controles estejam entre 20 - 25 °C antes da medição

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros pré-analíticos podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Procedimento

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001 ou Wash Buffer Ref.4100
2. Trigger Solution Ref. 4002
3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004
5. Cubetas de reação para o equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Procedimento de ensaio . Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR Code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções

específicas do analisador. Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes. O volume de amostra necessário para um teste é de 10 µL sem considerar o volume morto e volume adicional na pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Interferência

O Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir.

Substâncias	Concentrações
Hemoglobina	≤ 500 mg/dL
Bilirrubina	≤ 20 mg/dL
Triglicérides	≤ 3000 mg/dL

Especificidade analítica . Estudos adicionais foram realizados para avaliar a potencial interferência das seguintes condições médicas no Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010: vírus Epstein-Barr (anti-EBV positivo), vírus da hepatite A (anti-HAV positivo), vírus da hepatite C (anti-HCV positivo), vírus da Imunodeficiência humana (anti-HIV-1/2 positivo), sífilis, toxoplasmose IgG positivo, rubéola IgG positivo, CMV IgG positivo e HSV IgG positivo. Nenhuma reatividade cruzada para as condições descritas acima foi observada para o Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010.

Calibração . Rastreabilidade: Este método é rastreável a padrões de referência internos que passaram por atribuição de valor utilizando outro ensaio disponível comercialmente.

Todo kit de Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010 é rotulado com um *QR Code* contendo informações específicas de calibração por lote. A *Master Curve* predefinida é adaptada ao analisador usando dois calibradores que acompanham o kit.

Os controles (CONTROL 1 e CONTROL 2) devem ser ensaiados para avaliar a calibração do produto. Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem calibração adicional. Uma nova calibração deve ser executada nas seguintes condições:

- Um kit de um novo lote for utilizado;
- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos;
- Depois de 28 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente;
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou, após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Recomenda-se utilizar os controles da qualidade CONTROL 1 e CONTROL 2 contidos no kit para controle interno da qualidade.

Valores especificados para os controles . Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser

encontrados após a leitura de seu *QR Code*, presente na rack de reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500, após a leitura da *QR Code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (*Upper Limit*), o inferior LL (*Lower Limit*) e a média (*Target*), deve-se selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.

Para outros modelos de equipamentos, dedicados aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de análise de cada lote do produto que está disponível no site www.labtest.com.br.

Resultados

Cálculo . O analisador calcula os resultados para o ensaio Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010 utilizando a média da RLU da amostra dividida pelo valor de cut off (S/CO) para cada amostra e controle. O cut off é calculado a partir desta equação: (Média da RLU CAL1*[CAL1] *Master Curve*) + (Média da RLU do CAL2*[CAL2] *Master Curve*).

A RLU do cut off é armazenada para cada calibração de lote de reagente. S/CO = RLU da Amostra/Valor do cut off.

Interpretação dos resultados . O cut off é 1,00 S/CO.

Resultado inicial

S/CO	Interpretação	Procedimento de reteste
< 1,00	Não reagente	Não é necessário reteste.
≥ 1,00	Reagente	Teste novamente em duplicata

Interpretação Final

Interpretação Inicial	Resultados do reteste	Interpretação Final
Não reagente	Não é necessário reteste.	Não reagente
Reagente	Se ambos os resultados do reteste são < 1,00 (não reagente)	Não reagente
	Se um ou ambos resultados do reteste são ≥ 1,00 (reagente)	Reagente

As amostras reagentes devem ser testadas posteriormente por um método suplementar.

Limitações do procedimento

- Resultados falsos positivos podem ser esperados em qualquer kit de teste. A proporção destas amostras falsamente reativas depende da especificidade do kit de teste, da integridade da amostra e das

- características da população local que está sendo examinada.
- Se os resultados de anti-HBc forem inconsistentes com as evidências clínicas, testes adicionais são recomendados.
 - Nenhum teste de diagnóstico fornece garantia absoluta de que uma amostra não contém baixos níveis de anti-HBc, como os presentes em uma fase muito inicial da infecção. Portanto, um resultado negativo em qualquer tempo não exclui a possibilidade de exposição à infecção pelo HBV. Informações adicionais podem ser necessárias para o diagnóstico.

Características de desempenho . Dados de desempenho representativos são fornecidos nesta seção. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

Estudos de comparação de métodos . O estudo de comparação foi realizado utilizando 100 amostras e um método de tecnologia similar (CLIA), disponível comercialmente, como método comparativo, obtendo-se os resultados apresentados na tabela a seguir:

CLIA				
Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010	Reagente	Não reagente	Total	
	Positivo	50	0	50
	Negativo	0	50	50
	Total	50	50	100

Sensibilidade: 100 % (IC 95 %: 92,89 % a 100,0 %)
Especificidade: 100 % (IC 95 %: 92,89 % a 100,0 %)
Eficiência: 100 %
Coeficiente Kappa: 1,00
IC: Intervalo de confiança

Imprecisão . Os estudos de imprecisão foram realizados utilizando amostras com concentrações iguais a 0,01 e 3,80 S/CO de anti-HBc.

Repetibilidade - imprecisão intraensaio

Anti-HBc Reagent Kit - Ref. 4010							
Não reagente				Reagente			
Replicatas	S/CO Resultado	Replicatas	S/CO Resultado	Replicatas	S/CO Resultado	Replicatas	S/CO Resultado
1	0,03 - NR	11	0,02 - NR	1	3,91 - R	11	3,83 - R
2	0,02 - NR	12	0,01 - NR	2	3,76 - R	12	3,69 - R
3	0,04 - NR	13	0,01 - NR	3	3,98 - R	13	4,02 - R
4	0,03 - NR	14	0,01 - NR	4	3,90 - R	14	3,86 - R
5	0,05 - NR	15	0,01 - NR	5	3,78 - R	15	3,93 - R
6	0,02 - NR	16	0,03 - NR	6	4,11 - R	16	3,95 - R
7	0,01 - NR	17	0,02 - NR	7	3,95 - R	17	3,84 - R
8	0,01 - NR	18	0,01 - NR	8	3,94 - R	18	3,78 - R
9	0,02 - NR	19	0,01 - NR	9	3,99 - R	19	4,06 - R
10	0,02 - NR	20	0,10 - NR	10	4,02 - R	20	4,02 - R
Média		0,03		Média		3,92	
Resultado	Não reagente			Desvio Padrão		0,11	
				CV %		2,81	
				Resultado		Reagente	

R = Reagente/ NR = Não Reagente/ CV = Coeficiente de Variação

Reprodutibilidade (imprecisão total)

Anti-HBc Reagent Kit - Ref. 4010							
Não reagente				Reagente			
Replicatas	S/CO Resultado	Replicatas	S/CO Resultado	Replicatas	S/CO Resultado	Replicatas	S/CO Resultado
Dia 1	0,02 - NR	Dia 6	0,05 - NR	Dia 1	3,56 - R	Dia 6	4,06 - R
	0,01 - NR		0,03 - NR		3,74 - R		3,82 - R
	0,01 - NR		0,01 - NR		3,76 - R		3,86 - R
Dia 2	0,02 - NR	Dia 7	0,02 - NR	Dia 2	3,89 - R	Dia 7	3,60 - R
	0,01 - NR		0,02 - NR		3,86 - R		3,89 - R
	0,02 - NR		0,01 - NR		3,80 - R		3,74 - R
	0,03 - NR		0,01 - NR		3,83 - R		3,57 - R
Dia 3	0,02 - NR	Dia 8	0,02 - NR	Dia 3	3,74 - R	Dia 8	3,80 - R
	0,02 - NR		0,02 - NR		3,85 - R		3,87 - R
	0,02 - NR		0,02 - NR		3,83 - R		3,81 - R
Dia 4	0,02 - NR	Dia 9	0,01 - NR	Dia 4	3,89 - R	Dia 9	3,63 - R
	0,04 - NR		0,02 - NR		3,97 - R		3,83 - R
	0,01 - NR		0,02 - NR		3,80 - R		3,64 - R
Dia 5	0,02 - NR	Dia 10	0,01 - NR	Dia 5	3,66 - R	Dia 10	3,98 - R
	0,02 - NR		0,01 - NR		3,65 - R		3,86 - R
	0,04 - NR		0,01 - NR		3,95 - R		3,89 - R
	0,03 - NR		0,01 - NR		3,84 - R		3,94 - R
Média		0,02		Média		3,80	
Resultado	Não reagente			Desvio Padrão		0,124	
				CV %		3,26	
				Resultado		Reagente	

R = Reagente/ NR = Não Reagente/ CV = Coeficiente de Variação

Os resultados dos testes de imprecisão intraensaio e imprecisão total atendem à especificação desejável para o produto Anti-HBc Reagent Kit Ref. 4010, pois as amostras reagentes obtiveram resultado S/CO ≥ 1,00 e as não reagentes obtiveram resultado S/CO < 1,00 em todos os ensaios.

Referências

- European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. J Hepatol 57, 167–185 (2012).
- World Health Organization. World health statistics 2023: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. 2023.
- Trépo, C., Chan, H. L. Y. & Lok, A. Hepatitis B virus infection. Lancet 384, 2053–2063 (2014).
- Pondé, R. A. A.; Cardoso, D. D. P.; Ferro, M. O. The underlying mechanisms for the 'anti-HBc alone' serological profile. Archives of Virology 155:149–158. (2010).
- Seeff, L. B. et al. A serologic follow-up of the 1942 epidemic of post-vaccination hepatitis in the United States Army. N Engl J Med 316, 965–970 (1987).

6. Katchaki, J. N., Siem, T. H., Brouwer, R., Brandt, K. H. & van der Waart, M. Detection and significance of anti-HBc in the blood bank; preliminary results of a controlled prospective study. J Virol Methods 2, 119–125 (1980).

7. Lander, J. J., Gitnick, G. L., Gelb, L. H. & Arch, R. D. Anticore antibody screening of transfused blood. Vox Sang 34, 77–80 (1978).

8. World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/65957>. (2002).

9. Mayer, T. K., et al. Hepatitis B assays in serum, plasma and whole blood on filter paper. BMC Clinical Pathology 12, 8p. (2012).

10. Labtest: Dados de Arquivo.

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

 Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152
Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

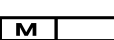
Edição: Outubro, 2024
Revisão: -
Ref.: 220725(03)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Instalar até Instalar hasta Install before		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment

Ref.: 160125 |