

Anti-HAV

Anticorpos totais (IgM e IgG) contra o vírus da Hepatite A

11820605 122

100 testes

Português

Função

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro dos anticorpos totais contra o vírus da hepatite A em soro e plasma humanos. O ensaio Anti-HAV é utilizado como auxiliar para detectar uma infecção passada ou existente do vírus da hepatite A, e para avaliar a resposta imunitária após vacinação. O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características

O vírus da hepatite A é um vírus de ARN sem envólucro. Pertence à família dos Picornavírus. Até à data, apenas foram descritos um serotipo humano e 7 genótipos. A cápsida viral é constituída por 3 proteínas (VP1-VP3) que formam uma estrutura imunodominante à superfície da partícula viral, fortemente conservada entre todos os genótipos. Após a vacinação ou uma infecção natural, a resposta imunológica é dirigida contra esta estrutura.¹ A hepatite A é a forma mais comum de hepatite viral aguda. É transmitida pela via fecal-oral. Sabe-se que esta doença não assume uma natureza crónica e que o vírus não consegue persistir no organismo.²

O vírus da hepatite A constitui uma das causas mais comuns (10-20%) de uma hepatite viral de evolução fulminante.³

Os anticorpos anti-HAV totais são positivos no início de uma infecção de hepatite A (IgM). Após uma infecção natural, torna-se geralmente possível a detecção de anticorpos anti-HAV IgG durante toda a vida, o que proporcionam protecção contra a doença no caso de reinfeção.⁴

Hoje em dia, existem vacinas contra a hepatite A e vacinas mistas contra a hepatite A e B.⁵ Após a vacinação contra a hepatite A, é possível a detecção dos anticorpos anti-HAV IgG durante cerca de 2 semanas. No caso de imunidade completa, a protecção mantém-se normalmente por anos.⁶ Não existe um valor limite para definir a protecção imunitária, mas valores de anticorpos anti-HAV superiores a 10-20 UI/l são geralmente considerados protectores de uma infecção.

Os ensaios de detecção dos anticorpos anti-HAV são utilizados para determinar uma infecção existente ou passada de hepatite A. São também utilizados para avaliar a resposta imunitária após vacinação contra o vírus da hepatite A.

Princípio do teste

Princípio de competição. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: 50 µl da amostra; os anticorpos anti-HAV presentes na amostra fixam-se ao antígeno HAV adicionado.
- 2ª incubação: Após a adição dos anticorpos biotinilados e dos anticorpos específicos do antígeno HAV marcados com complexo de ruténio^a, juntamente com as micropartículas revestidas de estreptavidina, os locais de fixação ainda livres dos antígenos HAV ficam ocupados. O complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, gerada especificamente no analisador por uma calibração de 2 pontos e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys Anti-HAV, Ref. 11820605 - 100 testes

M	Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml: Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml, capacidade de fixação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
R1	HAV Ag (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 ml: HAV Ag (humano) 40 U/ml (unidades da Roche); tampão HEPES ^b tampão 50 mmol/l, pH 7,2; conservante.
R2	Anticorpo anti-HAV Ag~biotina; anticorpo anti-HAV Ag~Ru(bpy) ₃ ²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 10 ml:

Anticorpo anti-HAV monoclonal biotinilado (ratinho) 0,25 µg/ml;
anticorpo anti-HAV monoclonal (ratinho) marcado com complexo de ruténio 0,15 µg/ml; tampão HEPES 50 mmol/l, pH 7,2; conservante.

Cal1 Calibrador negativo 1 (tampa branca), 2 frascos, cada com 1,0 ml:
Soro humano, negativo para anticorpos anti-HAV, conservante.

Cal2 Calibrador positivo 2 (tampa preta), 2 frascos, cada com 1,0 ml:
Anticorpo anti-HAV (humano) aprox. 46 UI/l em soro humano; conservante.

b) HEPES = [4-(2-hidroxiétilo)-piperazina]-ácido etanossulfónico

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Todo o material de origem humana deve ser considerado como potencialmente infeccioso.

Os calibradores (Cal1 e Cal2) foram preparados exclusivamente com sangue de doadores testados individualmente e que, segundo os métodos aprovados pela FDA, estão isentos de HBsAg e de anticorpos para o HCV e HIV.

O soro que contém anti-HAV (Cal2) e o reagente que contém HAV Ag (humano, R1) foram inactivados a frio com β-propiolactona e radiação UV.

Contudo, como nenhum método ou inactivação pode excluir com total segurança o risco de potencial infecção, o material deve ser tratado com o mesmo cuidado que é utilizado com as amostras dos pacientes. Em caso de exposição, cumpra as instruções das autoridades de saúde competentes.^{7,8}

Os reagentes não podem ser utilizados após o fim do prazo de validade indicado.

Evite a formação de espuma com todo tipo de reagentes e amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo estão prontos a ser utilizados e são fornecidos em frascos compatíveis com o sistema.

Analisador Elecsys 2010: Os calibradores Cal1 e Cal2 só devem permanecer no analisador durante a calibração a 20-25°C. Após a sua utilização, feche os frascos logo que possível e guarde-os a 2-8°C. Certifique-se de que nenhuma solução de calibração fica na tampa "snap-cap" aberta. Devido a possíveis efeitos de evaporação, não realize mais de 5 procedimentos de calibração por cada conjunto de calibradores.

Analisador MODULAR ANALYTICS E170: Se não for necessário o volume total para a calibração no analisador, transfira alíquotas do calibrador pronto a utilizar para os frascos vazios, munidos de tampa "snap-cap" (CalSet Vials). Coloque os rótulos fornecidos nestes frascos adicionais. Conserva as alíquotas para posterior utilização a 2-8°C.

Efectue **apenas um** procedimento de calibração por alíquota.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys Anti-HAV (M, R1, R2) **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
M, R1, R2 após abertura a 2-8°C:	8 semanas
no E170/Elecsys 2010 a 20-25°C:	8 semanas
Cal1, Cal2 após abertura a 2-8°C:	8 semanas
no Elecsys 2010 a 20-25°C:	até 5 horas
no E170:	Utilize uma única vez!

Guarde os calibradores **na vertical!** Evite que fiquem resíduos da solução de calibração na tampa "snap-cap" aberta.

Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro é colhido em tubos de amostra padrão ou com gel separador.



Plasma tratado com heparina-Li, -Na, EDTA-K₃ e citrato de sódio.
Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de $\pm 2 \times$ sensibilidade analítica + coeficiente de correlação $> 0,95$.

Estabilidade: 7 dias a 2-8°C, 3 meses a -20°C. As amostras podem ser congeladas 6 vezes.⁹

Ao utilizar amostras em tubos primários, consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras congeladas e as amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C). Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

- 2 x 6 rótulos para frascos

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 11876350, Elecsys PreciControl Anti-HAV, para 8 x 1,0 ml cada de PreciControl Anti-HAV 1 e 2
- Ref. 11361252, Elecsys Diluent Hepatitis A, 2 x 15 ml de diluente de amostras
- Ref. 11776576, Elecsys CalSet Vials, 2 x 56 frascos vazios com tampas "snap-cap"
- Equipamento normal de laboratório
- Analisador Elecsys 2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Acessórios para o analisador Elecsys 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cuvetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cuvetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado.

Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de

espuma. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Coloque os calibradores Cal1 e Cal2 na zona de amostras do analisador. Mantenha-os abertos apenas durante a calibração. Todas as informações necessárias para a calibração do teste estão codificadas no código de barras dos rótulos dos frascos do calibrador, sendo lidas automaticamente pelo analisador. Após a realização da calibração, conserve o Cal1 e Cal2 a 2-8°C ou elimine-os (MODULAR ANALYTICS E170).

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra o "Segundo Padrão Internacional para Anti-Hepatite A, Imunoglobulina, Humana, código NIBSC: 97/646" do NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control - Instituto Nacional de Padrões Biológicos e Controlo).⁹

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando as soluções de Elecsys Anti-HAV Cal 1, Cal 2 e reagente recém-colocado (i.e. dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)
- conforme necessário: p. ex. em resultados de ensaios de controlo de qualidade com os reagentes Elecsys PreciControl Anti-HAV fora dos limites especificados
- com mais frequência, quando tal se mostra necessário em conformidade com os regulamentos em vigor.

Verificação da calibração: Não é necessária. O software do analisador verifica automaticamente a validade da curva e alerta para eventuais desvios.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Elecsys PreciControl Anti-HAV. Efectuar os controlos 1 e 2 como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites. Se necessário, repetir as amostras envolvidas.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra em UI/l.

Interpretação dos resultados:

As amostras com concentrações < 20 UI/l não são reactivas no teste Elecsys Anti-HAV.

As amostras com concentrações ≥ 20 UI/l são reactivas no teste Elecsys Anti-HAV.

As concentrações > 20 UI/l indicam uma infecção antiga ou em curso de hepatite A ou a presença de anticorpos anti-HAV após a vacinação contra a hepatite A.

Importante! Os valores de anticorpos anti-HAV determinados podem diferir consoante o método de ensaio utilizado. O resultado do teste obtido para uma amostra pode, pois, variar, quando se utilizam ensaios de fabricantes diferentes. No caso de se observar uma alteração do tipo de ensaio durante a monitorização da protecção proporcionada pela vacina, os valores de anticorpos anti-HAV obtidos durante o período de transição para o novo método têm de ser confirmados por meio de medições paralelas através dos dois métodos.

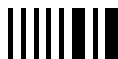
Limitações – interferências⁹

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 855 $\mu\text{mol/l}$ ou < 50 mg/dl), hemólise (Hb $< 0,745$ mmol/l ou $< 1,2$ g/dl), lipemia (Intralipid < 1.000 mg/dl) e biotina < 205 nmol/l ou < 50 ng/ml.

Critério: recuperação dentro de $\pm 10\%$ do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até uma concentração de 1600 UI/ml.



Anti-HAV

Anticorpos totais (IgM e IgG) contra o vírus da Hepatite A

Foram efectuados testes in vitro com 18 fármacos frequentemente utilizados. Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Tal como acontece com todos os testes que contêm anticorpos monoclonais de ratinho, este teste pode produzir resultados errados em amostras colhidas em pacientes tratados com este tipo de anticorpos ou que os receberam para fins de diagnóstico.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina e para o ruténio. O teste Elecsys Anti-HAV contém aditivos que minimizam esses efeitos.

Importante!

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

A vacinação contra o vírus da hepatite A deve ser considerada quando existe alguma incerteza, e particularmente, se o teste der um resultado perto do cutoff (20 UI/l).

Intervalo de medição⁹

3,00-60 UI/l (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 3,00 UI/l. Os valores acima do intervalo de medição são referidos como > 60 UI/l ou têm que ser diluídos.

Amostras com anticorpos anti-HAV IgM podem, em casos isolados, apresentar um comportamento de diluição não linear.

Diluição

As amostras com concentrações de anticorpos anti-HAV acima do intervalo de medição podem ser diluídas com o Elecsys Diluent Hepatitis A. A concentração da amostra diluída tem de ser > 20 UI/l. Multiplique o resultado pelo factor de diluição.

Dados específicos sobre o desempenho⁹

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, soros humanos e controlos (intra-ensaio n = 21, inter-ensaio n = 10). A precisão total no MODULAR ANALYTICS E170 foi determinada utilizando um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 2010	Precisão intra-ensaio			Precisão inter-ensaio		
	Média UI/l	DP UI/l	CV %	Média UI/l	DP UI/l	CV %
Amostra						
SH ^c , negativo	< 3,0	0,29	-	< 3,0	0,69	-
SH, perto do Cutoff	17,6	0,22	1,2	18,4	0,74	4,0
SH, positivo	41,9	0,48	1,2	42,3	1,23	2,9
PC ^d A-HAV1	20,9	0,40	1,9	21,7	0,81	3,7
PC A-HAV2	35,8	0,84	2,3	36,5	1,02	2,8

c) SH = soro humano

d) PC = PreciControl

MODULAR ANALYTICS E170	Precisão intra-ensaio			Precisão total		
	Média UI/l	DP UI/l	CV %	Média UI/l	DP UI/l	CV %
Amostra						
SH, negativo	< 3,0	0,34	-	< 3,0	0,83	-
SH, perto do Cutoff	21,8	0,11	0,5	29,2	0,89	3,0
SH, positivo	55,2	0,30	0,5	51,3	1,12	2,2
PC A-HAV1	21,1	0,17	0,8	21,0	0,57	2,7
PC A-HAV2	35,2	0,23	0,7	34,8	0,56	1,6

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

< 3,0 UI/l

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Especificidade analítica

Não foram observadas reacções cruzadas com HBV, HCV, HIV, CMV, EBV*, HSV, Toxoplasma gondii, vírus da Rubéola* e Treponema pallidum*.

Foram efectuados testes com um total de 140 amostras de plasma e soro negativas para anti-HAV, que apresentaram resultado positivo para os anticorpos dos patogénicos acima referidos ou contendo autoanticorpos (ANA, AMA).

* 1 amostra em cada grupo foi fracamente positiva.

Sensibilidade clínica

Em 97 amostras de pacientes com infecção passada ou existente (anti-HAV IgM positivo), foram detectados anticorpos anti-HAV (conc. > 20 UI/l), com o dispositivo Elecsys Anti-HAV.

165 amostras de 46 indivíduos vacinados contra o HAV, foram testadas com o dispositivo Elecsys Anti-HAV e com um teste de comparação disponível no mercado.

Em todas as amostras, a concentração de anticorpo anti-HAV foi superior ao respectivo limite.

Especificidade clínica

Para determinar a especificidade, um total de 1301 amostra de doadores de sangue não seleccionados, doentes hospitalizados, mulheres grávidas e doentes dialisados sem qualquer indicação de infecção pelo HAV foram testadas utilizando o ensaio Elecsys Anti-HAV e um teste de comparação. Com o dispositivo Elecsys Anti-HAV, 1286 amostras deram resultados < 20 UI/l.

A especificidade deste estudo é de 98,85%. O intervalo de confiança de 95% é de 98,11–99,35%.

Bibliografia

- Robertson BH, Nainan OV. Genetic and antigenetic variants of hepatitis A virus. In: Viral Hepatitis and Liver Disease. Eds: Rizzeto M, Purcell RH, Gerin JL, Verme G, Edizioni Minerva Medica, Turin 1997;14-18.
- Koff RS. Hepatitis A. Lancet 1998;341:1643-1649.
- Lemon ML, Days SL. Type A hepatitis. In: Gorbach S, Bartlett JG, Blacklow NL (eds). Infectious Diseases. Saunders WB, Philadelphia, 1992;705-708.
- Stapleton JT. Host Immune Response to Hepatitis A Virus. JID 1995;171(Suppl 1):9-14.
- Ambrosch F, Wiedermann G, André FE, Delem A, Gregor H, Hofmann H, et al. Clinical and Immunological Investigation of a New Combined Hepatitis A and Hepatitis B Vaccine. J Med Virol 1994;44:452-456.
- Dobler G, Nitschko H, Frösner GG, Langer BCA. Hepatitis A: Medizinische Bedeutung, Klinik, Diagnostik, Aussagewert diagnostischer Verfahren. In: Frösner G (Hrsg.). Moderne Hepatitisdiagnostik, Kilian Verlag 2001;19-30, 2nd edition.
- Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260-273.
- Directiva do Conselho (2000/54/CEE). Jornal Oficial das Comunidades Europeias Nº. L262 de 17 de Out., 2000.
- Documentação da Roche Diagnostics.

NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à excepção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.




Anti-HAV

Anticorpos totais (IgM e IgG) contra o vírus da Hepatite A

cobas

COBAS, ELECSYS e MODULAR são marcas registadas de um membro do Grupo Roche.
INTRALIPID é uma marca registada de Fresenius Kabi AB.
©2005 Roche Diagnostics



 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

