

Anti-HBc

Anticorpos contra o antígeno central (core) da hepatite B (anti-HBc)

11820559 122

100 testes

Português

Função

Imunoensaio para a determinação qualitativa in vitro dos anticorpos IgG e IgM contra o antígeno central (core) do vírus da hepatite B em soro e plasma humanos.

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 B é constituído por um invólucro externo (HBsAg) e por um núcleo interno (HBcAg). O antígeno central da hepatite contém 183–185 aminoácidos.¹

Durante uma infecção pelo vírus da hepatite B, formam-se geralmente anticorpos HBcAg que, frequentemente, subsistem para o resto da vida. O anti-HBc surge pouco tempo depois do início da infecção pelo vírus da hepatite B, podendo, normalmente, ser detectado no soro pouco tempo após o aparecimento do HBsAg. Os anticorpos anti-HBc subsistem tanto nos indivíduos que recuperaram de uma infecção de hepatite B, como naqueles que desenvolvem o estado de portador de HBsAg. Assim, são um indicador de infecção de hepatite B presente ou passada.²

Em alguns casos raros, a infecção pelo HBV pode transcorrer sem o aparecimento de anticorpos anti-HBc imunologicamente detectáveis (normalmente em doentes imunodeprimidos).³

Devido à longa persistência do anti-HBc após uma infecção viral de hepatite B, é a despistagem do anti-HBc que fornece as melhores informações sobre a prevalência da hepatite B num grupo específico de indivíduos.⁴

A determinação do anti-HBc em associação com outros testes da hepatite B permite diagnosticar e monitorizar as infecções pelo HBV. Na falta de outros marcadores da hepatite B (indivíduos negativos para HBsAg), o anti-HBc pode ser a única indicação de infecção viral de hepatite B já existente.⁵

Princípio do teste

Princípio de competição. Duração total do ensaio: 27 minutos.

- 1ª incubação: Pré-tratamento de 40 µl de amostra com agente redutor (Nº de patente para EUA 6.150.113; para Europa EP 0 341 439 B1).⁶
- 2ª incubação: Após incorporação do HBcAg, forma-se na amostra um complexo com anticorpos anti-HBc.
- 3ª incubação: Após a adição de anticorpos biotinilados e de anticorpos marcados com complexo de ruténio^a, específicos do HBcAg, juntamente com micropartículas revestidas de estreptavidina, os locais de ligação ainda livres nos antígenos do HBc são 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 automaticamente pelo software Elecsys comparando o sinal de electroquimioluminescência obtido do produto de reacção da amostra com o sinal do valor de cutoff anteriormente obtido pela calibração do ensaio anti-HBc.

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

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys Anti-HBc, Ref. 11820559 - 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.
R0	DTT (tampa branca), 1 frasco, 5 ml; 1,4-ditiotreitol 110 mmol/l; tampão citrato 50 mmol/l.
R1	HBcAg (tampa cinzenta), 1 frasco, 8 ml; HBcAg (E. coli, ADNr), > 25 ng/ml; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,4; conservante.
R2	Anticorpo anti-HBcAg-biotina; anticorpo anti-HBcAg-Ru(bpy) ₃ ²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 8 ml;

cobas

Anticorpos biotinilados monoclonais anti-HBc (ratinho) > 800 ng/ml; anticorpos monoclonais anti-HBc (ratinho) marcados com complexo de ruténio > 130 ng/ml; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 7,4; conservante.

Cal1 Calibrador negativo 1 (tampa branca), 2 frascos, cada com 1 ml: Soro humano, conservante.

Cal2 Calibrador positivo 2 (tampa preta), 2 frascos, cada com 1 ml: Anticorpo anti-HBc (humano) > 8 U PEI/ml^b em soro humano; conservante.

b) Unidades do Instituto Paul-Ehrlich

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. Todos os produtos derivados de sangue 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.

Os calibradores foram preparados exclusivamente com sangue de doadores testados individualmente e que, segundo os métodos aprovados pela FDA, estão isentos de HBsAg (apenas Cal1) e de anticorpos para o HCV e HIV. O soro contendo anti-HBc (Cal2) foi inativado 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.

Analizador 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.

Analizador MODULAR ANALYTICS E170: Se não for necessário o volume total para a calibração no analisador, transfira alíquotas dos calibradores prontos a utilizar para os frascos vazios, munidos de tampa "snap-cap" (CalSet Vials). Coloque os rótulos fornecidos nestes frascos adicionais. Conserve 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-HBc (M, R0, 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, R0, R1, R2 após abertura a 2-8°C:	8 semanas
no E170/Elecsys 2010:	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 em quantidade suficiente e consideradas aceitáveis.

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

Plasma tratado com heparina de sódio, EDTA-K₃ e citrato de sódio.

Critério: atribuição correcta de amostras negativas e positivas.

Estabilidade: 5 dias a 2-8°C, 3 meses a -20°C. As amostras podem ser congeladas 5 vezes.⁹

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

Advertência! De especial importância para o teste Elecsys anti-HBc: Amostras congeladas, amostras com precipitado e amostras para repetição, devem ser centrifugadas cuidadosamente antes de realizar o teste.

Podem ser utilizadas 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 e os calibradores 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. 11876325, Elecsys PreciControl Anti-HBc, para 8 x 1,3 ml cada de PreciControl Anti-HBc 1 e 2
- Ref. 11732277, Elecsys Diluent Universal, 2 x 18 ml de diluente de amostras ou Ref. 03183971, Elecsys Diluent Universal, 2 x 40 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. 03004899, PreClean M, 5 x 600 ml de solução de limpeza de detecção
- 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/Elecsys 2010: Eleve a temperatura do reagente refrigerado 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 "HBc-Reference Material 82 (anti-HBc IgG)" do Paul-Ehrlich-Institut, Langen (Alemanha).⁹

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando as soluções de Elecsys Anti-HBc 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 Elecsys PreciControl Anti-HBc 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.

Intervalo dos sinais de electroquimioluminescência (contagens) para os calibradores:

Calibrador negativo (Cal1): 42.000-250.000 (Elecsys 2010) ou 100.000-650.000 (MODULAR ANALYTICS E170), calibrador positivo (Cal2): 100-3.000 (Elecsys 2010 e MODULAR ANALYTICS E170).

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize os reagentes Elecsys PreciControl Anti-HBc.

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 deverá estabelecer 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 o valor de cutoff com base na determinação do Cal1 e Cal2.

O resultado de uma amostra é indicado como reactivo ou não reactivo bem como sob a forma de um índice de cutoff (sinal da amostra/cutoff).

Limitações – interferências⁹

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 428 µmol/l ou < 25 mg/dl), hemólise (Hb < 1,0 mmol/l ou < 1,6 g/dl), lipemia (Intralipid < 1.000 mg/dl) e biotina < 123 nmol/l ou < 30 ng/ml.

Critério: atribuição correcta de amostras negativas e positivas.

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 676 UI/ml.

Foram efectuados testes in vitro com 19 fármacos frequentemente utilizados.

Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Tal como acontece com todos os testes que contêm anticorpos monoclonais de rato, 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.



Anti-HBc

Anticorpos contra o antígeno central (core) da hepatite B (anti-HBc)

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para o ruténio.

O teste Elecsys Anti-HBc contém aditivos que minimizam esses efeitos.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina.

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.

Diluição

As amostras podem ser diluídas com Elecsys Diluent Universal ou com soro humano, plasma e soro fetal de vitela.

Valores teóricos

Interpretação dos resultados

As amostras com um índice de cutoff > 1,0 são não reactivas no teste Elecsys Anti-HBc. Estas amostras são consideradas negativas para anti-HBc e não precisam de ser testadas novamente.

As amostras com um índice de cutoff ≤ 1,0 são reactivas no teste Elecsys Anti-HBc. Os resultados das amostras consideradas reactivas no teste inicial terão de ser redeterminados em duplicado, utilizando o teste Elecsys Anti-HBc. Se os resultados obtidos nesse teste de "follow-up" forem "não reactivos" em ambos os casos, considera-se que a amostra é negativa para anti-HBc. Se, pelo menos uma das determinações repetidas for reactiva, considera-se que a amostra é repetidamente reactiva.

Dados específicos sobre o desempenho^a

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	DP	CV	Média	DP	CV
Amostra	ICO ^c	ICO	%	ICO	ICO	%
SH ^d , negativo	1,73	0,020	1,2	1,78	0,024	1,4
SH, fraco positivo	0,70	0,027	3,9	0,90	0,010	1,1
SH, positivo	0,31	0,010	3,4	0,01	0,0001	1,3
PC ^e A-HBC1	1,46	0,028	1,9	1,42	0,014	1,0
PC A-HBC2	0,32	0,007	2,3	0,30	0,004	1,6

c) ICO = índice de cutoff

d) SH = soro humano

e) PC = PreciControl

MODULAR ANALYTICS E170	Precisão intra-ensaio			Precisão total		
	Média	DP	CV	Média	DP	CV
Amostra	ICO	ICO	%	ICO	ICO	%
SH, negativo	2,26	0,033	1,5	2,20	0,120	5,5
SH, fraco positivo	0,74	0,019	2,6	0,73	0,059	8,1
SH, positivo	0,004	0,00006	1,7	0,004	0,0001	1,8
PC A-HBC1	2,26	0,026	1,2	2,21	0,103	4,7
PC A-HBC2	0,43	0,008	1,9	0,49	0,033	6,8

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

≤ 0,8 U IPE/ml

A sensibilidade indicada foi determinada através da leitura da concentração de anti-HBc correspondente ao sinal do valor de cutoff das curvas padrão obtidas com diluições sequenciais de materiais de referência anti-HBc do Paul-Ehrlich-Institut em soro humano isento de hepatite B.

Especificidade analítica

Não foram observadas reacções cruzadas com HAV, HCV, CMV, EBV, HSV, Toxoplasma gondii, Rubéola e E. coli.

Foram efectuadas determinações para cada um dos patogénios referidos acima, utilizando ≥ 6 amostras de soro ou plasma que apresentavam resultados positivos em relação aos anticorpos dos patogénios acima referidos ou que continham auto-anticorpos (por exemplo, AMA, ANA, SLE).

Sensibilidade clínica

Classificação das amostras	Elecsys Anti-HBc N° repet. reactivas	Teste comp. Anti-HBc N° repet. reactivas	Sens. %
Positivas para HBsAg	457	457	100
Positivas para Anti-HBs, negativas para HBsAg	67	67	100

Especificidade clínica

Para determinar a especificidade, analisaram-se amostras de dadores de sangue e de doentes hospitalizados, escolhidas aleatoriamente.

Grupo	N° testado	N° reactivo	Espec. %	Cant. repet. reactiva	Espec. %	Cant. confirm. positiva
Dadores de sangue	5111	112	99,6	106	99,7	91
Doentes hospitalizados de áreas com alta prevalência	245	95	-	89	-	87

Para o cálculo da especificidade (%) não foram consideradas as amostras confirmadas positivas.

Bibliografia

- Sällberg M, et al. Characterisation of a Linear Binding Site for a Monoclonal Antibody to Hepatitis B Core Antigen. J Med Virol 1991;33:248-252.
- Hoofnagle JH. Type B Hepatitis: Virology, Serology and Clinical Course. Seminars in Liver Disease: I 1981;1:7-14.
- Kumar S, Pound DC. Serologic diagnosis of viral hepatitis. Postgraduate Medicine 1992;92(4):55-65.
- Decker RH. Section 9, Viral Hepatitis. In: Zuckerman A, Thomas HC eds. Diagnosis. Churchill Livingstone, 1993:165-184.
- Gerlich WH, Caspari G, Uy A, Thomssen R. A critical appraisal of anti-HBc, HBV DNA and anti-HCV in the diagnosis of viral hepatitis. Biotest Bulletin 1991;4:283-293.
- Patent owned by Abbott Laboratories, USA.
- 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 N°. 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-HBc

Anticorpos contra o antígeno central (core) da hepatite B (anti-HBc)


cobas

COBAS, ELECSYS, MODULAR and MODULAR ANALYTICS are trademarks of a Member of the Roche Group. INTRALIPID is a trademark of Fresenius Kabi AB.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.

©2005 Roche Diagnostics

CE 0123

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

