

Kazetový test pro stanovení povrchového antigenu viru hepatitidy B

ÚVODNÍ INFORMACE

Hepatitis je obecný název zahrnující záněty jater, které mohou být způsobeny různými infekčními původci jako je hepatitis A, B, C, D a E. Z mnoha typů virové hepatitidy má největší význam hepatitis B (HBV). Hepatitis B je závažné a časté infekční onemocnění jater, týkající se milionů lidí po celém světě.

Závažné patologické důsledky přetrvávající virové infekce jater (HBV) zahrnují vývoj chronické jaterní nedostatečnosti, cirhózy a hepatocelulárního karcinomu (HCC). Kromě toho virus hepatitidy B (HBV) může přenášet onemocnění po dobu mnoha let. Infekce se může objevit i v raném dětství, kdy je bez příznaků, a často vede k chronickému stádiu.

Detekce povrchového antigenu hepatitidy B (HBsAg) identifikuje jedince infikované virem hepatitidy B.

Koncentrace sérové HBV DNA kvantifikovaná real-time polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) koreluje s progresí onemocnění a tím i s nasazením léčby a dalším monitorováním. HBsAg se typicky detekuje citlivou imunozkouškou, která používá protilátku proti povrchovému antigenu hepatitidy B. Rychlé testy přinášejí významné výhody, které zahrnují snížení nákladů, rychlé získání výsledků, časnou diagnózu, personál s minimem proškolení, zvýšení úrovně periferní zdravotní péče a rychlé zahájení léčby.

Interpretace panelu testů hepatitidy B		
Testy	Výsledky	Interpretace
HBsAg, anti-HBc, anti-HBs	negativní, negativní, negativní	vnímavý
HBsAg, anti-HBc, anti-HBs	negativní, pozitivní, pozitivní	imunní v důsledku přirozené nákazy
HBsAg, anti-HBc, anti-HBs	negativní, negativní, pozitivní	imunní v důsledku vakcinace proti hepatitidě B ⁺⁺
HBsAg, anti-HBc, IgM anti-HBc, anti-HBs	pozitivní, pozitivní, pozitivní, negativní,	akutně infekční
HBsAg, anti-HBc, IgM anti-HBc, anti-HBs	pozitivní, pozitivní, negativní, negativní	chronicky infekční
HBsAg, anti-HBc, anti-HBs	negativní, pozitivní, negativní	4 možné interpretace ⁺

- ⁺ 4 interpretace:
1. Může se jednat o uzdravení z akutní HBV infekce.
 2. Může se jednat o neurčitou imunitu a test není dostatečně citlivý pro detekci velmi malého množství HBsAg v séru.
 3. Může se jednat o vnímavost s falešnou pozitivitou anti-HBc.
 4. Může se jednat o nedetekovatelné množství HBsAg přítomného v séru a jedinec je ve skutečnosti chronicky infekční.

⁺⁺ Protilátková odpověď (HBsAg) se může změřit kvantitativně nebo kvalitativně. Ochranná protilátková odpověď je definována kvantitativně 10 a více mezinárodními milijednotkami (≥ 10 mIU/ml) nebo kvalitativně jako pozitivní. Aby testování po vakcinaci mělo smysl, mělo by se provést 1-2 měsíce po třetí vakcinační dávce.

DEFINICE

- Povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg): Serologický marker na povrchu viru hepatitidy B. Může být detekován ve velkém množství v séru během akutního nebo chronického zánětu. Přítomnost HBsAg ukazuje na to, že jedinec je infekční. Jedinec normálně produkuje protilátky proti HBsAg jako součást normální imunitní odpovědi na infekci.
- Protilátka proti povrchovému antigenu hepatitidy B (anti-HBs): přítomnost anti-HBs protilátek je obecně interpretována jako známka zotavení a imunity proti HBV infekci. Anti-HBs protilátky se vytvoří u jedince, který byl úspěšně očkován proti hepatitidě B.

- Protilátka proti jádrovému antigenu hepatitidy B (anti-HBc): objeví se na počátku příznaků akutní hepatitidy B a přetrvává po celý život. Přítomnost anti-HBc ukazuje na předešlou nebo současnou infekci virem hepatitidy B v časově přesně nedefinovatelném období.
- IgM protilátky proti jádrovému antigenu hepatitidy B (IgM anti-HBc): Tyto protilátky se objevují v průběhu akutní fáze nebo po předcházející infekci HBV a jsou přítomny po dobu přibližně 6 měsíců.

POUŽITÍ

HBsAg test je rychlou chromatografickou imunoanalýzou pro kvalitativní detekci povrchového antigenu hepatitidy B (HBsAg) v lidské plné krvi / séru / plazmě.

DIAGNOSTIKA

Monoklonální protilátky anti-HBs, koží anti-myší IgG polyklonální protilátky a anti-HBs monoklonální protilátka značená částicemi koloidálního zlata.

METODA

HBsAg test používá imunochromatografickou metodu pevné fáze pro kvalitativní detekci HBsAg v lidské plné krvi / séru / plazmě. Vzorek se aplikuje do jamky pro vzorek. Obsahuje-li vzorek HBsAg v detekčním množství, váže se tento k mobilním myším monoklonálním anti-HBs protilátkám konjugovaným s částicemi koloidálního zlata. Společně se pohybují k testovací oblasti "T". Povrchové antigeny hepatitidy B se vážou k imobilizovaným myším monoklonálním anti-HBs protilátkám a výsledkem je, že HBsAg molekuly, které byly navázány k mobilním myším monoklonálním anti-HBs protilátkám (konjugovaným s částicemi koloidálního zlata), jsou imobilizovány v "T" oblasti a vytvářejí tak viditelnou barevnou linii způsobenou nahromaděním částic koloidálního zlata v "T" oblasti, indikující pozitivní výsledek testu. Neobsahuje-li vzorek HBsAg, potom se vzorek pohybuje k "T" oblasti společně s nenavázanými (volnými) anti-HBs myšími monoklonálními protilátkami konjugovanými s částicemi koloidálního zlata. Imobilizované myší monoklonální anti-HBs se nemohou navázat na mobilní myší monoklonální anti-HBs protilátky konjugované s částicemi koloidálního zlata a tak nedojde k vytvoření barevné linie, což znamená negativní výsledek testu. Bez ohledu na obsah HBsAg v tekutině vzorku, jakmile tekutina vzorku prochází kontrolní "C" oblastí, mobilní monoklonální protilátky anti-HBs konjugované s částicemi koloidálního zlata se vážou k imobilizovaným kozím anti-myší IgG protilátkám. Nahromadění částic koloidálního zlata vytvoří viditelnou barevnou linii v "C" oblasti (barevný kontrolní proužek), což potvrzuje platnost výsledku testu. Barevný proužek v kontrolní oblasti "C" musí být vždy viditelný; není-li vidět žádný barevný proužek v kontrolní oblasti "C", je výsledek testu neplatný.

UPOZORNĚNÍ A OMEZENÍ

1. Pouze pro profesionální diagnostické použití in vitro.
2. Přečtěte si pozorně před použitím tento příbalový leták. Abyste získali správné výsledky, musíte provádět test přesně tohoto letáku.
3. Test je určen pro vzorky plné krve/séra/plazmy. Použití jiných typů vzorků může způsobit neplatné nebo falešné výsledky.
4. Nepoužívejte set po uplynutí expirační doby. Testovací kazeta je pouze na jedno použití. Nepoužívejte opakovaně.
5. Testovací kazeta musí zůstat v originálním obale do doby testování. Nepoužívejte test v případě poškození sáčku.
6. Pro každý vzorek použijte novou pipetu. Po použití lahvičku s pufrem uzavřete. Po prvním rutinním použití je pufr stabilní do konce expirace.
7. Pro odečtení výsledků použijte vhodné osvětlení.
8. Po testování odstraňte testovací kazetu do biologického odpadu.
9. Tento test mohou používat pouze dostatečně proškolený personál seznámený s laboratorními postupy a s jejich potenciálními riziky. Používejte vhodné oblečení, ochranné rukavice, brýle a zacházejte s materiálem podle Správné laboratorní praxe.
10. Se všemi vzorky pacientů se zachází jako s potenciálně infekčními. Během celého postupu dodržujte všechna upozornění týkající se mikrobiologického rizika a vzorky odstraňte do odpadu dle standardních postupů.
11. Nezamrazujte a nerozmrazujte opakovaně vzorky plazmy. Je-li to možné, vyhněte se použití zamražených a rozmražených vzorků, protože detrit může blokovat membránu.
12. Nepoužívejte zakalené, hemolytické vzorky. Zakalené vzorky je možno centrifugovat.

13. Hemolytické vzorky by se neměly používat, protože mohou způsobit neplatné nebo falešné výsledky.
14. Negativní výsledek nevylučuje možnost HBV infekce. V případě, že test je negativní a klinické příznaky přetrvávají, proveďte dodatečné testování za použití jiných metod.
15. Falešně negativní výsledky se vyskytují po nedávné expozici HBV. Období po nedávné expozici může trvat několik měsíců, dříve než hladina protilátek stoupne nad detekční limit. V mimořádných případech, přítomnost mutantního viru a infekce variantním virem mohou vést k falešně negativním výsledkům.
16. Pozitivní vzorky se musí přetestovat za použití jiných metod a výsledky nemohou být použity jako jediný důkaz pro diagnózu virové infekční hepatitidy.
17. Jako u všech diagnostických testů, musíte mít na zřeteli, že stanovení diagnózy nemůže být založeno na jediném výsledku testu. Diagnóza může být vyslovena pouze odborníkem až po vyhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů.

UCHOVÁVÁNÍ

Testovací kazety se musí uchovávat mimo zdroje radiace, přímého slunečního světla, vlhkosti a tepla. Skladují se při 4 – 30°C. Nemrazí se. Testovací kazeta se musí použít do 1 hodiny po otevření.

Složení setu: Testovací kazety, kapátka, diluenty (pouze pro vzorky plné krve) a návod k použití.

Materiál požadovaný, ale nedodávaný: Zkumavka pro odběr vzorku, centrifuga a stopky, pro odebrání plné krve z prstu: sterilní lanceta a zkumavka.

Materiál doporučený, ale nedodávaný: Mikropipety pro přenesení daného množství vzorku během provedení testu, negativní a pozitivní kontrolní materiály.

ODBĚR VZORKŮ A PŘÍPRAVA

Test se provádí s plnou krví (venózní nebo kapilární krev) / sérem / plazmou. Aby se zabránilo hemolýze, připravuje se sérum nebo plazma z krve co možná nejdříve a testuje se ihned po odběru.

V případě, že je testování odloženo, skladují se vzorky séra nebo plazmy při 2 – 8°C tři dny. Po třech dnech se vzorky musí zamrazit při – 20°C nebo níže. Mražené sérum nebo plazma se musí zcela rozmrazit a před testováním velmi dobře promíchat. Před testováním vzorky vytemperujte na teplotu místnosti.

Plazma a venózní krev se odebírají do následujících antikoagulačních roztoků: K3EDTA, K2EDTA, citrát sodný (3,2%), citrát sodný (3,8%), heparin litný, heparin sodný.

Vzorky séra: krev se odeberte do zkumavky bez antikoagulačního roztoku, ponechá se 30 minut stát, aby došlo ke koagulaci, a poté se centrifuguje. Tekutina, která zůstává po ukončení centrifugace, se používá jako sérum. (Doba centrifugace & rychlost: 2300 – 2880 x g po dobu 10 minut).

Vzorky plazmy: Vzorek krve pacienta se odebírá do roztoku s antikoagulanciem, aby se zabránilo srážení vzorku, a poté se centrifuguje. Tekutina, která zůstává po ukončení centrifugace, se používá jako plazma. (Doba centrifugace & rychlost: 2300 – 2880 x g po dobu 10 minut).

Vzorky plné krve: Odeberte venózní krev do odběrové zkumavky s antikoagulanciem, abyste zamezili srážení krve. S plnou krví se test musí provést ihned. Nicméně vzorky plné krve se mohou uchovávat 2 dny při 2 – 8°C. Vzorky plné krve se nemrazí.

Pro kapilární krev; v souladu s laboratorní praxí použijte sterilní lancetu a vhodnou kapiláru. Test se musí provést ihned.

POSTUP TESTU

1. Vytemperujte testovací kazetu a vzorky plné krve / séra / plazmy na teplotu místnosti. Vyjměte ze sáčku testovací kazetu.
2. **Pro vzorky séra / plazmy:** Naberte sérum do kapátka a nakapejte 3 kapky (75 μ l) do jamky pro vzorek na kazetě. Pro vzorky séra a plazmy nepoužívejte diluent.
Pro vzorky plné krve: Naberte plnou krev do kapátka a nakapejte 2 kapky (50 μ l) do jamky pro vzorek na kazetě. Ihned poté přidejte do jamky pro vzorek 1 kapku diluentu a ponechejte vsáknout.
Při použití kapilární krve: odeberte 50 μ l plné krve z prstu pomocí kapiláry (není přiložena),

přeneste ji do jamky pro vzorek. Ihned poté přidejte do jamky pro vzorek 1 kapku diluentu a ponechte vsáknout.

Vyhňte se tvorbě bublin.

3. Výsledky by se měly odečítat do 15 minut. Neodečítejte výsledky po 20 minutách, výsledky získané po 20 minutách by měly být považovány za neplatné.

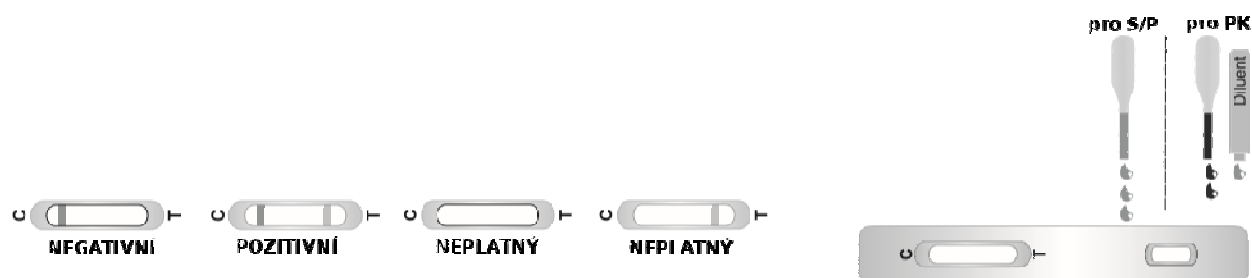
INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Negativní: Pouze jeden barevný proužek v oblasti “C“

Pozitivní: V oblasti “T“ a “C“ jsou viditelné dva barevné proužky.

Nízká koncentrace povrchového antigenu hepatitidy B může způsobovat slabý proužek v testovací oblasti “T“. I takový jemný proužek v testovací oblasti musí být považován za pozitivní.

Neplatný: Není viditelný žádný barevný proužek nebo je viditelný pouze barevný proužek v testovací oblasti “T“, test se musí opakovat s novou testovací kazetou.



KONTROLA KVALITY

Testy jsou postaveny na procesních vlastnostech kontroly kvality. Po provedení testu uživatel pozoruje barevný proužek v oblasti “C“ u negativních vzorků a barevnou linii v “T“ a “C“ oblasti u pozitivních vzorků. Objevení kontrolního proužku v “C“ oblasti je považováno za interní kontrolu kvality. Tento proužek znamená, že do jamky bylo přidáno dostatečné množství vzorku a současně platný výsledek testu. Doporučuje se používat negativní a pozitivní kontrolu pro ověření správného provedení testu jako externí kontrolu. Uživatelé by měli dodržovat státní a místní směrnice týkající se externí kontroly kvality.

VYHODNOCENÍ PROVEDENÍ

Test HBsAg detekuje všechny subtypy povrchového antigenu viru hepatitidy B.

Stav vzorků	Stav vzorků HBsAg	Vzorky sér S/P			Vzorky sér plná krev		
		Počet vzorků	Typ zkoušky	Výsledek	Počet vzorků	Typ zkoušky	Výsledek
Přirozeně akutně nebo chronicky infikovaní	pozitivní	536	EIA	100 %	411	EIA	100 %
Dárci krve	negativní	1041	EIA	99,8 %	-	-	-
Klinické	negativní	225	EIA	100 %	225	EIA	100 %
Těhotné ženy	negativní	280	EIA	100 %	30	EIA	100 %

Citlivost a specifita

Pro vzorky S/P; výsledky použitých pozitivních vzorků (947/947), negativních vzorků dárců krve (1799/1799). Zpracování těchto výsledků; citlivost, specifita, 95% hodnota intervalu spolehlivosti byly vypočteny jako;

Citlivost: 100 % (95% CI=99,61%-100%)	Specifita: 99,89 % (95% CI=99,60%-99,99 %)
--	---

Analytická citlivost Cut-off: 0,26 IU/ml

Sérokonverzní panely: Pro Türklab HBsAg rychlé testy bylo připraveno 30 sérokonverzních panelů, u nichž byla použita jako referenční zkouška CE Marked EIAs.
Türklab HBsAg rychlé testy byly schopny detekovat antigen HBsAg podobným způsobem jako CE Marked EIAs testy.

Interference: S HBsAg rychlými testy byly testovány následující potenciálně interferující látky: hemoglobin, bilirubin, triglyceridy, revmatoidní faktor (RF). Nebyla pozorována žádná interference.
Hemolytické vzorky nemohou být použity, protože způsobují neplatné nebo falešně pozitivní výsledky.

Zkřížená reaktivita: Zkřížená reaktivita byla testována s níže uvedenými vzorky, žádná zkřížená reaktivita u HBsAg rychlých testů nebyla nalezena.

- vzorky anti-HCV sérum / plazma,
- vzorky anti-HCV sérum / plazma,
- vzorky plné krve / séra / plazmy těhotných žen.

Kapilární krev: U pozitivních a negativních vzorků kapilární plné krve odebrané z prstu byl proveden HBsAg test. Výsledky ukázaly, že je dobrá korelace testovaných výsledků mezi venózní a kapilární krví.

Literatura:

1. "Hepat_t_s B", *World Health Organ_zat_on Department of Commun_cable D_seases Surve_llance and Response*, WHO/CDS/CSR/LYO/2002.2:Hepat_t_s B.
2. "Hepat_t_s B", *WHO, Med_a Centre*.
3. "Facts and F_gures", *The Hepat_t_s B Foundat_on*.
4. Interpretat_on of Hepat_t_s B Serolog_c Test Results, *Centers for D_sease Control and Prevent_on (CDC)*.
5. Gu_del_nes fort he prevent_on, care and treatment of persons w_th chron_c hepat_t_s _nfect_on, *World Health Organ_zat_on*, 2015.
6. Khuroo MS, Khuroo NS, Khuroo MS. (2014). "Accuracy of Rap_d Po_nt-of-Care D_agnost_c Tests for Hepat_t_s B Surface Ant_gen—A Systemat_c Rev_ew and Meta-analys_s". *Journal of Cl_n_cal and Exper_mental Hepatology*. do :10.1016/j.jceh.2014.07.008.
7. WHO Gu_del_nes on Hepat_t_s B and C Test_ng. Geneva: World Health Organ_zat_on; 2017 Feb. ANNEX 4, *PICO Quest_ons and Dec_s_on-Mak_ng Tables*.

Datum poslední revize: 1.8.2019

Revize č.09



TÜRKLAB TIBBI MALZEMELER SAN.VE TIC.A.S.









ITOB 10031 Sokak No.: 15 Tekeli Menderes Izmir /TURKEY
Tel.: +90 232 376 80 81
Fax: +90 232 376 80 40 www.turklab.com.tr
info@turklab.com.tr

Distribuce:

EXBIO Olomouc s.r.o.
Ovesná 14
779 00 Olomouc, Česká republika
Tel.: +420 587 301 011, www.exbio.com

CE 1434

SYMBOLY

	Značka CE		Skladujte při (omezení teploty)
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>		Sledujte návod k použití
	Katalogové číslo		Číslo šarže
	Spotřebujte do (expirace)		Výrobce