

Kazetový test pro stanovení protilátky proti viru hepatitidy C

ÚVODNÍ INFORMACE

Virus hepatitidy C (HCV) je nejčastější příčinou chronického onemocnění jater, progredující často v cirhózu a se stoupajícím rizikem hepatocelulárního karcinomu. HCV patří do skupiny RNA virů Flaviviridae. Genom se skládá asi z 10 000 nukleotidů a kóduje jednoduchý protein s asi 3 000 aminokyselinami. Polyprotein je zpracován buňkami hostitele a virovými proteázami do tří hlavních strukturálních proteinů a několika nestrukturálních proteinů nezbytných pro replikaci viru. Dosud bylo identifikováno několik různých genotypů HCV s mírně odlišnými genomickými sekvencemi, což odpovídá rozdílům v odpovědi na léčbu interferonem alfa.

HCV se klasifikuje do 6 geneticky odlišných genotypů, které se dále rozdělují do nejméně 70 subtypů, které se liší hodnotami nukleotidů asi z 30% a 15%. Různé genotypy se mohou projevovat různými fenotypovými vlastnostmi.

Test se provádí na imunochromatografické membráně během několika minut a výsledky se odečítají makroskopicky, testy jsou vhodné pro použití v laboratořích, které mají omezené možnosti. Dodatečně, i když neexistuje žádná profylaktická léčba po píchnutí jehlou, je velmi důležité rychle vědět stav pacienta, který byl zdrojem, ohledně HCV.

POUŽITÍ

Anti-HCV test je rychlou chromatografickou imunoanalýzou pro kvalitativní detekci protilátek vytvořených proti proteinům, které jsou kódovány zachovalými sekvencemi CORE, NS3, NS4, NS5 částmi HCV genomu v lidské plné krvi / plazmě / séru.

DIAGNOSTIKA

Rekombinantní HCV antigeny (CORE, NS3, NS4, NS5), monoklonální protilátky anti-HCV, rekombinantní HCV antigeny (CORE, NS3, NS4, NS5) konjugované s částicemi koloidálního zlata.

METODA

Anti-HCV test používá imunochromatografickou techniku pevné fáze pro kvalitativní detekci protilátek proti HCV antigenům v lidské plné krvi / plazmě / séru. Vzorek se aplikuje do jamky pro vzorek. Jsou-li ve vzorku anti-HCV protilátky, tyto se vážou k mobilním rekombinantním HCV antigenům konjugovaným s částicemi koloidálního zlata. Společně se pohybují směrem k "T" oblasti. Komplexy anti-HCV protilátky – rekombinantní HCV antigeny se váží k imobilizovaným rekombinantním HCV antigenům a výsledkem toho je, že anti-HCV protilátky, které jsou už navázány k mobilním rekombinantním HCV antigenům (konjugovaným s částicemi koloidálního zlata), jsou imobilizovány v "T" oblasti a tak vytvoří viditelný barevný proužek, který vzniká nahromaděním částic koloidálního zlata v "T" oblasti (barevný testovací proužek), znamenající pozitivní výsledek testu. Nejsou-li ve vzorku žádné anti-HCV protilátky, vzorek se pohybuje k "T" oblasti společně s nenavázanými (volnými) rekombinantními HCV antigeny konjugovanými s částicemi koloidálního zlata. Imobilizované rekombinantní HCV antigeny se nemohou navázat k mobilním HCV antigenům konjugovaným s částicemi koloidálního zlata, proto se neobjeví žádný viditelný barevný proužek v testovací "T" oblasti (žádný barevný testovací proužek), což znamená negativní výsledek testu. Bez ohledu na obsah anti-HCV protilátek v tekutině vzorku, jakmile tekutina vzorku prochází kontrolní "C" oblastí, mobilní rekombinantní HCV antigeny konjugované s částicemi koloidálního zlata se váží k imobilizovaným monoklonálním protilátkám anti-HCV. Nahromaděním 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 použití in vitro.
2. Nepoužívejte set po uplynutí expirační doby. Testovací kazeta je pouze na jedno použití. Nepoužívejte opakovaně.
3. Testovací kazeta musí zůstat v originálním obale do doby testování. Nepoužívejte test v případě poškození sáčku.
4. Pro provedení testu použijte ochranné rukavice.
5. Pro každý vzorek použijte nové kapátko.
6. Po testování se testovací kazeta odstraní do biologického odpadu.
7. Se všemi vzorky pacientů se zachází jako s potenciálně infekčními. Během celého postupu dodržujte všechna upozornění týkající se mikrobiologického rizika a odstranění do odpadu po provedení testování proveďte v souladu s postupy daného pracoviště.
8. Nezamrazujte a nerozmrazujte opakovaně vzorky plazmy. Je-li to možné, vyhněte se použití zamrazených a rozmrazených vzorků, protože zbytky buněk mohou blokovat membránu.

9. Nepoužívejte zakalené, hemolytické vzorky. Zakalené vzorky můžete centrifugovat.
10. Hemolytické vzorky by se neměly používat, protože mohou způsobit neplatné nebo falešné výsledky.
11. Tento test ukazuje pouze přítomnost nebo chybění anti-HCV protilátek ve vzorku a nemůže být použit jako jediný důkaz pro diagnózu HCV.
Jako u všech diagnostických testů, musíte mít na zřeteli, že stanovení diagnózy nemůže být založeno na jednom 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.

Při zachování výše uvedených podmínek zůstává test v původním balení stabilní do konce expirační doby.

Testovací kazeta se musí použít do 1 hodiny po otevření.

Složení setu: Testovací kazety, kapátka, diluenty a návod k použití.

Materiál požadovaný, ale nedodávaný: Zkumavka na odběr vzorku, centrifuga a stopky.

Materiál doporučený, ale nedodávaný: mikropipeta pro přenos vzorku, negativní a pozitivní kontrolní materiál.

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 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.

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).

POSTUP TESTU

1. Vytemperujte testovací kazetu a vzorky plné krve / séra / plazmy na teplotu místnosti. Vyndejte ze sáčku testovací kazetu.
2. **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 2 kapky 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 2 kapky diluentu a ponechejte vsáknout.
Pro vzorky séra/plazmy: Naberte do kapátka sérum / plazmu a nakapejte 1 kapku (30 μ l) do jamky pro vzorek. Ihned poté přidejte do jamky pro vzorek 2 kapky diluentu a ponechejte vsáknout.
Vyhněte 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.

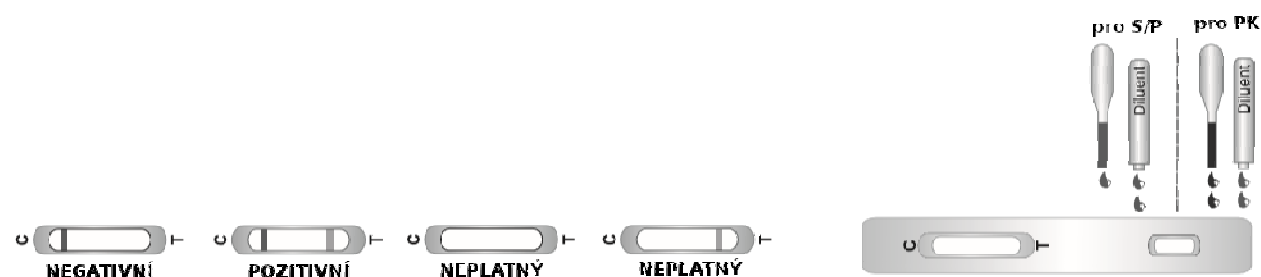
INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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 anti-HCV detekuje protilátky vytvořené proti proteinům kódovaným zachovanými sekvencemi CORE, NS3, NS4, NS5 částmi HCV genomu.

Stav vzorků	Stav vzorků HCV	Vzorky sér S/P			Vzorky sér plná krev		
		Počet vzorků	Typ zkoušky	Výsledek	Počet vzorků	Typ zkoušky	Výsledek
Pozitivní vzorky (všechny dostupné genotypy)	pozitivní	412	EIA	100 %	60	EIA	100 %
Dárci krve	negativní	1045	EIA	100 %	-	-	-
Klinické	negativní	312	EIA	100 %	215	EIA	100 %
Těhotné ženy	negativní	280	EIA	100 %	30	EIA	100 %
Revmatoidní faktor (RF)	negativní	150	EIA	100 %	150	EIA	100 %
anti-HCV	negativní	20	EIA	100 %	10	EIA	100 %
Bilirubin	negativní	10	EIA	100 %	-	-	-
Hemoglobin	negativní	10	EIA	100 %	-	-	-
Triglyceridy	negativní	10	EIA	100 %	-	-	-

Citlivost a specifita

Pro vzorky S/P; výsledky použitých pozitivních vzorků (472/472), negativních vzorků dárců krve (1882/1882). Zpracování těchto výsledků; citlivost, specifita byly vypočteny jako;

Citlivost: 100 % (95% CI = 99,22% - 100%)

Specifita: 100% (95% CI = 99,80% - 100%)

Sérokonverzní panely: Pro Türklab anti-HCV rychlé testy bylo připraveno 30 sérokonverzních panelů, u nichž jako referenční zkouška byla použita EIA. Türklab anti-HCV rychlé testy jsou ve své citlivosti srovnatelné s EIA zkouškou se značkou CE.

Zkřížená reaktivita: Zkřížená reaktivita byla testována s níže uvedeným vzorky, žádná zkřížená reaktivita u anti-HCV rychlých testů nebyla pozorována.

- anti-HBs vzorky plné krve / séra / plazmy,
- vzorky plné krve / séra / plazmy těhotných žen.

Interference: Následující potenciálně interferující látky byly testovány s anti-HCV rychlými testy: hemoglobin, bilirubin, triglyceridy, revmatoidní faktor (RF). Žádná interference nebyla pozorována.

Hemolytické vzorky nemohou být použity, protože způsobují neplatné nebo falešně pozitivní výsledky.

Literatura:

1. Hepatitída C, WHO, Medica Centre.
2. Worman H. J., M.D., (1999). "Hepatitída C", *Association of Professional Physicians, The Point*. Issue 15.
3. Tarr A. W. et al. (2005). "Characterization of Host-Range and Cell Entry Properties of the Major Genotypes and Subtypes of Hepatitis C Virus", *Hepatology*. Vol.41:265-274.
4. "Treatment of HCV in Persons with Cirrhosis". *Hepatitis C Online*.
5. Desbois et al. (2008). "Sensitivity of a rapid immuno-chromatographic test for Hepatitis C antibodies detection". *Journal of Clinical Virology*, Volume 41, Issue 2.
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2013). Testing for HCV infection: an update of guidance for clinicians and laboratories. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 62(18), 362-5.

Datum poslední revize: 22.3.2019

Revize č.6



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