

Informacja anty-HCV – Test Hepatitis C (Nr prod. IHC02)

Szybki test do jakościowego oznaczania przeciwciał wirusa przeciw HC w ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osoczu.

W celu poprawnego użycia produktu obowiązuje dołączona ulotka. Tłumaczenie ulotki służy wyłącznie jako ułatwienie korzystania z testu.

Wprowadzenie

Test anty-HCV jest immunochromatograficznym testem do jakościowego oznaczania przeciwciał w ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osoczu, które są skierowane przeciw białkom, kodowanym przez CORE-, NS3-, NS4- lub NS5- sekwencji genomu HCV.

Zastosowanie

Wirus Hepatitis C (HCV) jest jedną z głównych przyczyn przewlekłych chorób wątroby, prowadzącą do marskości wątroby i ma znaczący wpływ na zwiększenie ryzyka wystąpienia raka wątrobowokomórkowego.

HCV jest jednoniciowym wirusem RNA, spolaryzowanym dodatnio, z rodziny Flaviviridae. Genom zawiera około 10.000 nukleotydów i koduje pojedynczą poliproteinę składającą się z około 3.000 aminokwasów. Poliproteina jest przetwarzana przez komórkę gospodarza i wirusowe proteazy w trzy główne białka strukturalne i kilka białek niestrukturalnych, które są niezbędne dla replikacji wirusowej. Zostały określone inne genotypy HCV z nieco innymi sekwencjami genomowymi, co ma wpływ na zróżnicowane reakcje w odpowiedzi na leczenie interferonem alfa. HCV można podzielić na sześć różnych genotypów, a następnie na kolejne 70 podtypów, które różnią się o 30% i 15% na poziomie nukleotydów. Różne genotypy mogą mieć inne właściwości fenotypowe. Szybki test chromatograficzny dostarcza wynik wizualny w ciągu kilku minut i można go przeprowadzić w laboratorium bez specjalnego wyposażenia. Może to być ważne w celu szybkiego określenia stanu HCV u pacjenta, jeśli nie zastosowano zapobiegawczych środków ochrony przeciw HCV po zranieniu igłą.

Odczynniki

Rekombinowane antygeny HCV (CORE, NS3, NS4, NS5), monoklonalne przeciwciała przeciw HCV, sprzężone z cząsteczkami złota koloidalnego rekombinowane antygeny HCV (Core, NS3, NS4, NS5).

Zasada działania testu

Test anty-HCV wykorzystuje fazę stałą technologii immunochromatograficznej do jakościowego wykrywania przeciwciał do antygenów HCV w ludzkiej krwi pełnej, w surowicy lub osoczu. Test jest dwuwarstwowym immunometrycznym badaniem o wysokiej czułości, który wykorzystuje kombinację przeciwciał monoklonalnych i rekombinowane antygeny HCV (Core, NS3, NS4, NS5) w celu selektywnego wykrywania przeciwciał wobec antygenów HCV w próbkach. Rekombinowane antygeny HCV, w tym Core, NS3, NS4 i NS5 są unieruchomione na membranie nitrocelulozowej w obszarze testowym linii "T", a monoklonalne przeciwciała HCV są unieruchomione w obszarze linii kontrolnej "C". Rekombinowane antygeny HCV, w tym Core, NS3, NS4 i NS5 skoniugowane są z cząstkami złota koloidalnego i pokryte na poduszce z koniugatem. Próbkę nanosi się na poduszkę z koniugatem. Jeśli anty-HCV jest obecny w próbce, to łączy się on z ruchomymi rekombinowanymi koloidalnymi cząsteczkami złota antygeny HCV. Mieszanina wędruje do obszaru linii testowej „T”. Rekombinowany kompleks antygen HCV anty-HCV wiąże się z unieruchomionym rekombinowanym antygenem HCV. W związku z tym zostają unieruchomione w obszarze linii testowej „T” kompleksy anty-HCV oznaczone skoniugowanym złotem i powstaje widoczna, kolorowa linia. Dzieje się tak ze względu na nagromadzenie koloidalnych cząsteczek złota w obszarze linii testowej "T" (kolorowa linia testowa) i wskazuje na pozytywny wynik testu. Jeżeli próbka nie zawiera anty-HCV, wędruje dalej z powleczonymi i nie związanymi (wolnymi) rekombinowanymi z koloidalnymi cząsteczkami złota skoniugowanego antygeny HCV do obszaru linii testowej „T”. Unieruchomione rekombinowane antygeny HCV nie mogą związać ruchomych rekombinowanych z koloidalnymi cząsteczkami złota skoniugowanych antygenów HCV, dlatego nie powstaje widoczna, kolorowa linia w obszarze linii testowej „T”, co wskazuje na negatywny wynik. Bez względu na obecność przeciwciał anty-HCV w płynnej próbce, wiążą się ruchome rekombinowane z cząstkami złota koloidalnego skoniugowane antygeny HCV z unieruchomionym monoklonalnym przeciwciałem HCV, podczas gdy próbka przepływa przez obszar linii kontrolnej „C”. Z powodu nagromadzenia koloidalnych cząsteczek złota powstaje kolorowa linia kontrolna w obszarze linii kontrolnej „C”, która wskazuje na ważny wynik testu. Kolorowa linia w obszarze linii kontrolnej „C” musi być zawsze widoczna. Jeżeli linia nie pojawi się, należy uznać wynik testu jako nieważny.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

1. Tylko do profesjonalnej diagnostyki in vitro.
2. Nie używać testu po upływie daty ważności. Kasetę testową przeznaczoną jest do jednorazowego użytku. Nie używać ponownie kaset testowych.
3. Do momentu użycia kasetę testową powinna pozostać w zamkniętym opakowaniu. Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
4. Podczas przeprowadzania badania należy używać jednorazowych rękawiczek.
5. Do każdej próbki używać nowej pipety. Pipety plastikowe zawarte w zestawie, mogą nie dostarczać wymaganej ilości próbki, dlatego dla pewności powinno się używać się mikropipet.
6. Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.

7. Test wskaże obecność lub brak przeciwciał przeciw HCV w próbce i nie powinien być używany jako jedyne kryterium diagnozy wirusowej infekcji Hepatitis C.

Jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych ostateczna diagnoza kliniczna, nie może być oparta na wynikach jednego testu, tylko musi być poddana ocenie lekarza, uwzględniając kolejne kliniczne i laboratoryjne wyniki.

Przechowywanie

Kasetę testową należy chronić przed bezpośrednim działaniem światła słonecznego, wilgocią oraz wysoką temperaturą. Test powinien być przechowywany w temperaturze 4-30°C. Nie zamrażać. Przy podanych warunkach przechowywania w oryginalnym opakowaniu, test jest stabilny do daty ważności nadrukowanej na opakowaniu. Test powinien być przeprowadzony w ciągu godziny od momentu wyjęcia go z foliowego opakowania.

Materiały zawarte w zestawie:

Kasety testowe, środek rozcieńczający, pipety oraz instrukcja obsługi.

Materiały potrzebne niezawarte w zestawie:

1. Pojemnik na próbkę
2. Centryfuga i stoper
3. Nakłuwacz (tylko dla krwi pełnej z opuszka palca)
4. Heparynowana nasadka i rurka kapilarna (tylko dla krwi pełnej z opuszka palca)
5. Mikropipety, które gwarantują wymaganą ilość próbki w celu przeprowadzenia testu
6. Kontrole pozytywne i negatywne

Pobranie i przygotowanie próbek

Test można przeprowadzić za pomocą krwi pełnej, surowicy lub osocza. W celu uniknięcia hemolizy należy oddzielić surowicę lub osocze od krwi, tak szybko, jak to jest możliwe.

Próbka krwi pełnej:

W przypadku próbek krwi pełnej test powinien zostać przeprowadzony natychmiast. Jeżeli nie jest to możliwe, próbki krwi pełnej należy przechowywać w temperaturze 2-8° z dodatkiem antykoagulantów (EDTA, heparyna, cytrynian sodu), w celu uniknięcia krzepnięcia. Próbki powinny być przetestowane w ciągu 2 dni od pobrania.

Próbka surowicy:

Krew pobrać do probówki bez antykoagulantów, pozostawić do skrzepnięcia na 30 minut, a następnie ją odwirować. Po odwirowaniu należy użyć powstały płyn (surowica) po oddzieleniu się skrzepu (czas wirowania 10 minut; szybkość 4000 rpm).

Próbki osocza:

Krew pobrać do probówki z antykoagulantami (EDTA, heparyna, cytrynian sodu), pozostawić do skrzepnięcia na 30 minut, a następnie ją odwirować. Po odwirowaniu należy użyć powstały płyn (osocze) po oddzieleniu się skrzepu (czas wirowania 10 minut; szybkość 4000 rpm).

Nie używać mętnych, hemolitycznych próbek. Jeżeli próbka nie może być przetestowana w tym samym dniu, należy ją przechowywać schłodzoną lub zamrożoną. Próbki osocza i surowicy nie powinny być ponownie zamrażane i rozmrażane. Nie zamrażać próbek krwi pełnej. Przed przeprowadzeniem testu doprowadzić wszystkie próbki do temperatury pokojowej. Zamrożone próbki powinny być przed wykonaniem testu rozmrożone i dobrze wymieszane. Mętne próbki należy odwirować. Należy unikać używania zamrożonych i rozmrożonych próbek, aby uniknąć zatkania membrany przez powstałe cząsteczki.

Przeprowadzenie testu

1. Wyjąć kasetę testową z foliowego opakowania. Doprowadzić kasetę testową, krew pełną, surowicę lub osocze do temperatury pokojowej

2. **Próbka krwi pełnej:**

Dodać **60 µl (2 krople)** krwi pełnej do otworu na próbkę na kasecie testowej. Natychmiast dodać **2** krople środka rozcieńczającego i poczekać na wchłonięcie płynu.

Próbka surowicy/osocza:

Dodać **30 µl (1 kropla)** surowicy/osocza do otworu na próbkę na kasecie testowej. Natychmiast dodać **2** krople środka rozcieńczającego i poczekać na wchłonięcie płynu.

Należy unikać powstawania pęcherzyków powietrza.

3. W zależności od koncentracji anty-HCV w próbce, wynik testu może ukazać się już po 5 minutach. Wyniki należy odczytać po 15 minutach, jak pokazano poniżej. Nie odczytywać wyników po 20 minutach i traktować je jako nieważne.

Zaleca się używanie mikropipety

Interpretacja wyników

Negatywny



Tylko jedna kolorowa linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C); co oznacza, że w próbce nie znajduje się przeciwciało wirusa Hepatitis C.

Pozytywny



Pojawia się kolorowa linia w obszarze linii kontrolnej (C) i jedna kolorowa linia w obszarze linii testowej (T); co oznacza, że w próbce znajduje się przeciwciało wirusa Hepatitis C. Niskie koncentracje przeciwciał wirusa Hepatitis C mogą prowadzić do powstania słabej linii (T). Pojawienie się słabej linii testowej, powinno być interpretowane jako wynik pozytywny.

Nieważny



Jeżeli podczas przeprowadzania testu nie pojawi się linia w obszarze kontrolnym (C), niezależnie od tego, czy pojawi się linia testowa (T), wynik testu jest nieważny. Przyczyną może być nieprawidłowe przeprowadzenie testu lub upływanie daty ważności testu. Zaleca się przeprowadzenie nowego testu.

Kontrola jakości

Test anti-HCV posiada wewnętrzną kontrolę jakości. Po przeprowadzeniu testu w przypadku negatywnej próbki, osoba wykonująca badanie zauważy kolorową linię w obszarze linii kontrolnej (C). W przypadku próbki pozytywnej pojawią się kolorowe linie w obszarze linii kontrolnej (C) oraz w obszarze linii testowej (T). Pojawienie się linii kontrolnej (C) należy traktować jako wewnętrzną kontrolę procesową. Pojawienie się linii wskazuje na dodanie wystarczającej ilości próbki oraz, że wynik testu jest ważny. Zaleca się użycie kontroli negatywnej i pozytywnej w celu sprawdzenia wydajności testu. Zewnętrzne kontrole jakości powinny odpowiadać krajowym i lokalnym zarządzeniom.

Charakterystyka testu

Test anti-HCV może wykrywać przeciwciała przeciw białkom, które zostały zakodowane przez konserwowane sekwencje CORE-, NS3-NS4- lub NS5 genomu HCV.

Nr badania	Status próbki	anti-HCV-Status próbki	Metoda porównawcza	Wynik
400	Próbki pozytywne (wszystkie dostępne genotypy)	Pozytywny	EIA	100 %
1058	Dawcy krwi	Negatywny	EIA	100 %
250	Kliniczna	Negatywny	EIA	100 %
229	Kobiety ciężarne	Negatywny	EIA	100 %
150	Czynniki reumatoidalne(RF)	Negatywny	EIA	100 %
10	Bilirubina	Negatywny	EIA	100 %
10	Hemoglobina	Negatywny	EIA	100 %
10	Trójglicerydy	Negatywny	EIA	100 %
10	anty-HBs	Negatywny	WHO-Standard	100 %

Czułość: 100 %

Swoistość: 100 %

Pozytywna wartość predykcyjna:

100 %

Negatywna wartość predykcyjna: 100 %

Dane badań:

Panele serokonwersji: Przebadano 30 paneli serokonwersji szybkiego testu Türklab anti-HCV i porównywano z metodą EIA. Wszystkie 30 serokonwersji zostało wykrytych przy użyciu szybkiego testu anti-HCV Türklab. Testy wykazały pozytywny wynik testu z pojawieniem się linii kontrolnej w obszarze linii kontrolnej "C" i linii testowej w obszarze linii testowej "T". Wyniki zostały potwierdzone metodą EIA. Analiza ta wskazuje, że szybkie testy Türklab anti-HCV mają taką samą wydajność co do czułości diagnostycznej jak testy EIA posiadające znak CE.

Reakcje krzyżowe:

W celu przetestowania reakcji krzyżowych użyto próbek kobiet ciężarnych anti-HBs krwi pełnej, surowicy i osocza. Nie stwierdzono żadnej reakcji krzyżowej anti-HCV.

Interferencje:

Testem anty-HCV przetestowano następujące, potencjalnie zakłócające substancje: hemoglobina, bilirubina, trójglicerydy, czynniki reumatoidalne (RF). Nie stwierdzono żadnych interferencji. Nie powinno się używać hemolitycznych próbek, ponieważ mogą one prowadzić do fałszywych lub nieważnych wyników.

Bibliografia

1. Cell culture-grown hepatitis C virus is infectious in vivo and can be recultured in vitro, Charles M. Rice, December 28, 2005
2. Diseases of the Liver, 2002, Howard J. Worman, M. D.
3. Characterization of Host-Range and Cell Entry Properties of the Major Genotypes and Subtypes of Hepatitis C Virus, Dimitri Lavillette, Alexander W. Tarr, Cécile Voisset, Peggy Donot, Birke Bartosch, Christine Bain, Arvind H. Patel, Jean Dubuisson, Jonathan K. Ball, and Francois-Loic Cosset, HEPATOLOGY 2005;41:265-274
4. Sensitivity of a rapid immunochromatographic test for Hepatitis C antibodies detection, Daniel et al., 2005.