HCV - EIC
Instruções de Uso

REF.: 531
MS 80022230165

MÉTODO
Imunocromatografia (EIC - Ensaio Imunocromatográfico).

FINALIDADE
Teste imunocromatográfico rápido para a determinação qualitativa do anticorpo anti-HCV (anticorpo do vírus da hepatite C) em amostras de soro ou sangue total, usando antígenos sintéticos recombinantes imobilizados na membrana para identificação seletiva de anti-HCV.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO
Teste Positivo: Os anticorpos anti-HCV presentes na amostra ligam-se ao conjugado antigamaglobulina humana-ouro coloidal formando um complexo. O complexo formado fluirá pela membrana da Placa-Teste indo se ligar aos antígenos do HCV imobilizados na área da reação positiva (T), determinando o surgimento de uma banda colorida rosa-clara.
A mistura da reação continuará fluindo até atingir a área controle (C). O conjugado não ligado une-se aos reagentes desta área, produzindo uma banda colorida rosa-clara, demonstrando que os reagentes estão funcionando corretamente.
Teste Negativo: Na ausência de anticorpos anti-HCV não haverá o aparecimento da banda colorida na área do teste (T), havendo formação de uma banda colorida rosa-clara apenas na área controle (C), demonstrando que os reagentes estão funcionando corretamente.

SIGNIFICADO CLÍNICO
A hepatite viral consiste em doença inflamatória com quadro clínico infeccioso. São conhecidos vários tipos de vírus hepatotrópicos, que possuem características físico-químicas e epidemiológicas próprias para cada tipo e subtipos. As infecções desenvolvem-se de forma transitória ou persistente, favorecendo a evolução para a infecção aguda auto-limitada, estado de portador crônico assintomático e doença crônica.
Os principais agentes virais hepatotrópicos causadores de hepatite são designados como: vírus da hepatite A (HAV); vírus da hepatite B (HBV); vírus da hepatite C (HCV); vírus da hepatite Delta (HDV); vírus da hepatite E (HEV) e vírus GBV-C (HGV). Cada um apresenta características estruturais e genômicas que permitem diferenciá-los através de diferentes metodologias laboratoriais com sensibilidade e especificidade definidas.
Infecções persistentes causadas por HBV, HCV e HDV estão sempre associadas à doença hepática crônica, podendo evoluir para a cirrose e/ou hepatocarcinoma.
O vírus da hepatite C (HCV ou VHC) é classificado como um gênero à parte dentro da família Flaviviridae, apresentando uma molécula RNA de cadeia simples no seu núcleo e um envelope lipídico.
Sabe-se atualmente, que o HCV é o principal agente etiológico, responsável por 90 a 95% dos casos de hepatite pós-transfusional não-A não-B.
A transmissão ocorre por via parenteral, por intermédio do sangue e derivados, pela utilização de agulhas e seringas contaminadas e nos transplantes de órgãos e tecidos.
A transmissão sexual tem sido relatada, embora seja pouco frequente. Ocorrências esporádicas, sem história prévia de transfusão ou outra causa aparente, representam cerca de 40% dos casos de hepatite C.
O período de incubação da hepatite C é em média de 6 a 7 semanas, variando entre 2 a 26 semanas.
Aproximadamente 20 a 30% dos pacientes com infecção aguda têm icterícia, 70% são assintomáticos, 70 a 85% evoluem para hepatite crônica, com consequente risco de desenvolvimento de cirrose e carcinoma hepatocelular.
A infecção pelo HCV assemelha-se à causada pelo vírus B, e os sintomas iniciais da doença são inespecíficos e/ou gastrointestinais, seguindo-se a icterícia.
Os níveis de alanina aminotransferase apresentam flutuações, com valores inferiores aos observados nas hepatites A e B.
O curso clínico da hepatite C é menos severo que o da B, porém a evolução para a forma crônica da doença ocorre em 50% dos pacientes infectados pelo vírus C, em comparação aos 5 a 10% dos casos de indivíduos infectados pelo vírus B.

QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO
O kit HCV - EIC é um teste imunocromatográfico rápido empregado na triagem para caracterizar a presença de anticorpos anti-HCV.
O sistema HCV - EIC utiliza como reagente de captura, imobilizado na Placa-Teste, uma mistura de proteínas sintéticas e recombinantes do HCV, que lhe confere uma alta sensibilidade e excelente especificidade na detecção dos anticorpos anti-virus da hepatite C.

REAGENTES
Conservar entre 2-30 ºC.
1. **Placa-Teste:** Composta por uma base plástica onde estão acondicionados o filtro de amostra, uma base conjugada contendo a anti-globulina humana marcada com ouro coloidal, uma membrana de nitrocelulose pré-aplicada com duas bandas, sendo uma linha de Teste com frações antigênicas do HCV: Core, NS3, NS4 e NS5 e uma linha de Controle com anti-IgG de camundongo. Todo esse material montado nesta base plástica é acondicionado em um cassete plástico embalado em sachê de alumínio contendo sílica.
2. **Diluente:** Frasco conta-gotas contendo solução de fosfato de sódio 1 mmol/L (PBS), TritonX-100 a 0,1%, solução de albumina bovina (BSA) a 0,5% e azida sódica 15,4 mmol/L.

Estabilidade
A Placa-Teste e o Diluente são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto, desde que sejam conservados nas condições recomendadas dentro da embalagem original.

Atenção: A presença de linhas ou manchas na Placa-Teste antes de sua utilização indica deterioração do kit.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
- Papel absorvente
- Recipientes para descarte do material
- Pipeta automática
- Capilar heparinizado

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS
- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- Deve-se evitar expor o kit a temperaturas elevadas, bem como diretamente ao sol.
- O Diluente contém azida sódica como conservante. O descarte deste reativo deve ser acompanhado de grandes volumes de água para evitar o acúmulo de resíduos de azida nos encanamentos, pois esta pode reagir com chumbo e cobre formando sais altamente explosivos. Além disso, a azida é tóxica quando ingerida.
- Não congelar a Placa-Teste, pois isso causará deterioração irreversível.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Recomendamos o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como avental, óculos de segurança, luvas descartáveis e outros que se fizerem necessários para a realização do teste.
- Não deve ser utilizada a boca para pipetagem de reagentes, amostra ou qualquer outra substância.

AMOSTRA
(SORO ou SANGUE TOTAL)
Usar amostras recém-coletadas, livres de hemólise, lipemia e contaminação bacteriana. Caso não seja possível, conservá-las em geladeira entre 2-8 ºC por 48 horas. Para armazenagens mais longas, as amostras devem ser mantidas no freezer a -20 ºC.
Repetidos congelamentos e descongelamentos das amostra podem originar falsos resultados.

Atenção: Amostras mantidas no freezer devem ser descongeladas e homogeneizadas completamente. Posteriormente, mantê-las em posição vertical para permitir que qualquer partícula que possa existir em suspensão seja sedimentada. Não agitar as amostras.
Amostras diluídas podem ocasionar resultados falso-negativos.
O sangue total deve ser colhido por punção digital sem a utilização de anticoagulantes líquidos, pois, caso se trate de amostra com baixa reatividade, pode induzir a um resultado falso-negativo devido à diluição da amostra.

Nota
Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizados seguindo as recomendações das Boas Práticas em Laboratórios Clínicos.
Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

PROCEDIMENTO DO TESTE PARA SANGUE TOTAL
Para coleta de sangue total recomenda-se utilizar o capilar heparinizado.
1. Deixar a placa-teste (1) adquirir a temperatura ambiente antes de retirá-la do envelope laminado.
2. Realizar assepsia da ponta do dedo, então com uma lanceta para punção digital realizar a coleta do sangue total.
3. Completar com sangue total o capilar heparinizado e utilizar uma gota da amostra contida no capilar diretamente na cavidade da amostra.
4. Dispensar 3 gotas (100 µL) da solução diluente (2) na cavidade da amostra (►).
5. Fazer a leitura dos resultados entre 10 e 15 minutos.

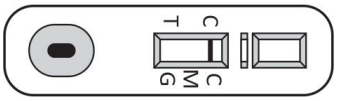
PROCEDIMENTO DO TESTE PARA SORO
1. Deixar a placa-teste (1) adquirir a temperatura ambiente antes de retirá-la do envelope laminado.
2. Pipetar 10 µL de amostra (sem bolha de ar) na cavidade da amostra (►) na placa-teste.
3. Dispensar 3 gotas (100 µL) da solução diluente (2) na cavidade da amostra (►).
4. Fazer a leitura dos resultados entre 10 e 15 minutos.

Labtest Linha Plural

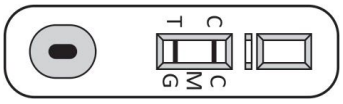
LEITURA DOS RESULTADOS

ATENÇÃO: Para este teste, considerar apenas as marcações C e T do cassete para análise dos resultados. Qualquer outra marcação deverá ser desconsiderada.

Negativo: Somente uma banda de cor rosa-claro aparecerá na área do controle (C).



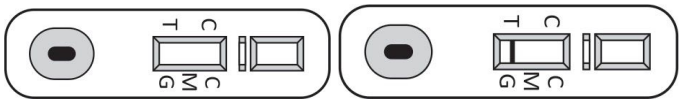
Positivo: Aparecerão duas bandas de cor rosa-claro, uma na área teste (T) e outra na área do controle (C).



Nota

- Qualquer intensidade de cor rosa na área teste deve ser considerada como positivo.
- Podem ocorrer diferenças na intensidade de cor entre a banda do teste e a banda controle, mas isso não afeta a interpretação dos resultados.
- Essa diferença é devido aos níveis de anticorpos na amostra do paciente.

Inválido: Se não surgir nenhuma banda visível na área teste (T) e do controle (C) ou se não surgir banda na área do controle (C).



Atenção

Não considerar resultados após o tempo determinado para leitura.

LIMITAÇÕES DO MÉTODO

O HCV-EIC é um teste de triagem para caracterizar a presença de anticorpos anti-HCV. Um resultado repetidamente positivo com este teste é uma presumível evidência da presença de anticorpos anti-HCV na amostra analisada.
Resultados positivos deverão sempre ser confirmados pelo método RIBA (Recombinant Immunoblot Assay) ou outro teste confirmatório.
Podem ocorrer resultados falso-positivos e falso-negativos com este teste, cuja proporção dependerá da prevalência da doença na população ensaiada.
Como em qualquer procedimento diagnóstico, o resultado deste teste deve ser sempre interpretado em conjunto com outras informações clínicas disponíveis.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve ter implementado um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC).
O aparecimento da linha colorida (rosa) na posição controle (C) é indicativo de um desempenho adequado do teste.
Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle positivas e negativas.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO[7]

Sensibilidade Clínica ou Diagnóstica

100% de sensibilidade. No ensaio foram testadas 127 amostras do controle de qualidade sabidamente positivas. Todos os testes foram positivos, não sendo encontrado resultados negativos.

Especificidade Diagnóstica

99,8% de especificidade. No ensaio foram testadas 777 amostras do controle de qualidade sabidamente negativas. Os testes foram satisfatórios, apresentando somente um resultado falso-positivo.

Repetibilidade - Precisão Intra-ensaio

Foram usadas 10 replicatas de três amostras para avaliação da precisão dentro do ensaio. Os valores negativos e positivos foram corretamente identificados em 100% das vezes.

Reprodutibilidade - Precisão Inter-ensaio

Usando as mesmas três amostras foram realizados 10 ensaios independentes com três diferentes lotes de Placa-Teste por um período de 10 meses. Os valores negativos e positivos foram corretamente identificados em 100% das vezes.

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade do reagente e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bendinelli, M. et al.: Hepatitis C virus: bioogy, patogénesis, epidemiology, clinical description, and diagnosis, In: Specter, S. Editor. Viral hepatitis diagnosis, therapy, and prevention. Humana Press: 65-127, 1999.
2. Choo, Q. L.; Kuo, G. et al.: Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science, 244:359-62, 1989.
3. Fagn, E.A. and Harrison, T.J.: Hepatitis C virus (HCV). Viral Hepatitis, bios Scientific Publishers Limited: 131-66,2000.
4. Part II. Detection and quantitation of HCV in serum. In: Lau, J.Y.N. editor. Hepatitis C protocols, Humana Press: 27-111, 1998.
5. Price, C.P. et al.: Disposable integrated immunoassay devices. In: Price, C. P. and Newman, D.J. editors. Principles and practice of immunoassay, 2nd ed. Macmillan Reference: 581-603, 1997.
6. Urdea, M.S. etal.: Hepatitis C: diagnosis and monitoring. Clinical Chemistry, 43 (8B): 1507-1511, 1997.

APRESENTAÇÃO

Nº de testes	Reagente	Quantidade
20	Placa Teste	20
	Diluente	1 x 3 mL

Gold Analisa Diagnóstica Ltda. CNPJ: 03.142.794/0001-16
Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363, Carlos Prates
Belo Horizonte - MG - Brasil. CEP 30710-020
(31) 3272-1888 - 0800 703 1888
goldanalisa@goldanalisa.com.br

PRODUZIDO NO BRASIL A PARTIR DA
COOPERAÇÃO ENTRE LABTEST DIAGNÓSTICA S.A.
E GOLD ANALISA DIAGNÓSTICA LTDA.

Labtest Diagnóstica S.A. CNPJ: 16.516.296/0001-38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600, Vista Alegre
Lagoa Santa - MG - Brasil. CEP 33400-000

Serviço de Apoio ao Cliente:
DDG: 0800 031 3411 • Fone: +55 (31) 3689 6900
sac@labtest.com.br • www.labtest.com.br

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Labtest garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.
Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

SIMBOLOGIA

REF	Número do catálogo		Limite de temperatura
LOT	Número do lote	Σ	Quantidade de testes
IVD	Produto para diagnóstico *in vitro*		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 05/18