

Kazetová sada rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorku plné krve/séra/plazmy)



REF GCHCV-402a
URČENÝ ZPŮSOB POUŽITÍ

Kazetová sada rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorku plné krve/séra/plazmy) je sendvičový laterální průtokový chromatografický imunotest pro kvalitativní zjišťování **protilátek (IgG, IgM a IgA) proti viru hepatitidy C** v lidské plné krvi, lidském séru nebo v lidské plazmě. Rychlotest se používá jako screeningový test a jako pomůcka při diagnostikování infekce virem hepatitidy C. Všechny vzorky, které při otestování kazetovou sadou rychlotestu na virus hepatitidy C reagují, musí být ověřeny i jinou testovací metodou a dalším klinickým nálezem.

ÚVOD

Virus hepatitidy C je malý, obalený, jednořetězcový pozitivní RNA virus. Protilátka proti viru hepatitidy C je zjištěna u více než 80 % pacientů s dobře zdokumentovanou hepatitidou jiného typu než A a B. Při izolaci viru v buněčné kultuře a při jeho vizualizaci elektronovým mikroskopem nejsou konvenční metody úspěšné. Klonováním virového genomu se podařilo vytvořit sérologické testy, které využívají rekombinantní antigeny^(1, 2). Ve srovnání s první generací enzymového imunotestu na virus hepatitidy C, u které se využívalo jediného rekombinantního antigenu, bylo pro zabránění nespecifické křížové reaktivitě a pro zvýšení citlivosti testů na přítomnost protilátek proti viru hepatitidy C^(3, 4) do nových sérologických testů přidáno několik antigenů s rekombinantním proteinem a/nebo syntetickými peptidy. Kazetová sada rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorku plné krve/séra/plazmy) slouží ke kvalitativnímu zjišťování přítomnosti protilátky proti viru hepatitidy C ve vzorku plné krve, séra nebo plazmy. K selektivnímu zjišťování zvýšené hladiny protilátek proti viru hepatitidy C v plné krvi, séru nebo v plazmě je využívána kombinace rekombinantního antigenu.

PRINCIP

Kazetová sada rychlotestu na virus hepatitidy C je laterálním průtokovým chromatografickým imunotestem, který využívá sendvičovou techniku s dvěma antigeny. Testovací kazeta obsahuje: 1) vínově zbarvenou konjugáčnou podložku s antigeny viru hepatitidy C konjugovanými s koloïdním zlatem (konjugáty HCV Ag) a konjugáty zlata s králičím IgG, 2) kazetu s nitrocelulóзовou membránou s testovým proužkem (proužek T) a kontrolním proužkem (proužek C). Proužek T je potažen nekonjugovanými antigeny viru hepatitidy C a proužek C je potažen kozím anti-králičím IgG. Pokud se do jamky kazety zanesou dostatečné množství testovaného vzorku, vzorek začne vzlínat. Pokud jsou ve vzorku přítomny, IgG, IgM, nebo IgA protilátky proti viru hepatitidy C se navážou na konjugáty HCV Ag. Na membráně potažené antigeny viru hepatitidy C následně dojde k zachycení imunokomplexu a proužek T se zbarví vínovou barvou, což signalizuje pozitivní výsledek testu přítomnosti protilátek proti viru hepatitidy C. Nevytvoření proužku T signalizuje negativní výsledek. Test obsahuje vnitřní kontrolní mechanismus (proužek C), který se imunokomplexem kozího anti-králičího IgG a konjugátu králičího IgG se zlatem zbarví vínovou barvou bez ohledu na přítomnost protilátek proti viru hepatitidy C. V opačném případě je výsledek testu neplatný a vzorek je třeba otestovat novou kazetou.

OBSAH VÝROBKU

Kazetová sada rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorku plné krve/séra/plazmy), která obsahuje částice potažené antigenem viru hepatitidy C (antigen obsahuje jádro, segment NS3, NS4 a NS5) a potah antigenu viru hepatitidy C na membráně (rekombinantní antigen obsahuje jádro, segment NS3, NS4 a NS5).

DODANÝ MATERIÁL

1. 25 uzavřených sáčků, z nichž každý obsahuje testovací kazetu, kapátko a vysoušedlo
(V testovací kazetě je proužek T potažen nekonjugovanými antigeny viru hepatitidy C a proužek C je na nitrocelulóзовé membráně potažen kozím anti-králičím IgG a navázán na koloïdní zlato na podložce).

2. 1 příbalový leták

3. 1 pufer (4 ml) (kasein-sůl: 1 %, NaCl: 0,9 %, Na₂HPO₄ 0,286 %, Na₂SO₄: 0,5 %)



Výstraha

Výstraha: 0,5% NaN₃
Při požití zdraví škodlivý, škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobým účinkem.
Prevence
Po manipulaci důkladně omyjte obličej, ruce a veškerou exponovanou pokožku.
Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.
Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosol.
Při používání tohoto výrobku nejzte, nepijte a nekuřte.
Látka se nesmí vypouštět do životního prostředí.
První pomoc
PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. Nevyvolávejte zvracení.
Necítíte-li se dobře, vyhledejte lékařskou pomoc.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY

- nádoby na odběr vzorků
- sterilní lancety (pouze pro odběr plné krve z prstu)
- odstředivka (pouze pro odběr plazmy)
- časovač
- heparinované kapilární trubičky a dávkovací balonek (pouze pro odběr plné krve z prstu)

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Soupravu lze skladovat při pokojové teplotě nebo v chladničce (2–30 °C). Testovací kazeta je stabilní do data expirace vytištěného na uzavřeném sáčku. V uzavřeném sáčku musí zůstat až do okamžiku použití. NEZMRAZUJTE. Po datu expirace soupravu nepoužívejte.

POKYNY A UPOZORNĚNÍ

- Pouze pro odborné diagnostické použití *in vitro*. Po datu expirace nepoužívejte.
- Varování: Činidla v soupravě obsahují azid sodný, který může reakci s olověným nebo měděným potrubím vytvářet potenciálně výbušné azidy kovy. K prevenci tvorby azidů vždy při likvidaci těchto činidel proveďte výplach velkým množstvím vody.

- V případě poškození sáčku nebo zkumavky výrobek nepoužívejte.
- Test je pouze na jedno použití. Za žádných okolností jej nepoužívejte opakovaně.
- Se všemi vzorky nakládejte tak, jako by obsahovaly infekční agens. Při testování dodržujte zavedená preventivní opatření proti mikrobiologickému nebezpečí a dodržujte standardní postupy pro správnou likvidaci vzorků.
- Při testování vzorků používejte ochranný oděv, například laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranu očí.
- Výsledky mohou být nepříznivě ovlivněny vlhkostí a teplotou.
- Test neprovádějte v místnosti se silným prouděním vzduchu, například při zapnutém elektrickém ventilátoru nebo při intenzivní klimatizaci.

ODBĚR VZORKU

- Kazetová sada rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorku plné krve/séra/plazmy) je určena k testování vzorků krve odebrané ze žíly či prstu, vzorků séra nebo vzorků plazmy.
- Pro venepunkci plné krve a plazmy: Jako antikoagulans použijte K₂EDTA, heparin sodný, sterilní citrát sodný nebo heparin lithný. Jiná antikoagulancia nebyla testována a mohou poskytovat chybné výsledky.
- Odběr vzorků plné krve z prstu:
 - Ruku pacienta omyjte mýdlem a teplou vodou nebo očistěte alkoholovým tamponem a nechte oschnout.
 - Třením ruky směrem ke špičce prostředníčku nebo prsteníčku ruku promasírujte, ale nedotýkejte se místa vpichu.
 - U každé osoby proveďte vpich novou sterilní lancetou. První kapičky krve otřete.
 - Ruku jemně masírujte od zápěstí přes dlaň až na prst tak, abyste se v místě vpichu vytvořila kulatá kapka krve.
 - Vzorek odebrané plné krve vkápněte kapilární trubičkou do testovacího zařízení:
 - Hrot kapilární trubičky vložte do kapky krve a odeberte přibližně 60 µl. Zabraňte vzniku vzduchových bublin.
 - Na horní konec trubičky nasadte balonek a zmáčknutím krev umístěte do jamky (S) v testovací kazetě.
- K zabránění hemolýzy oddělte sérum nebo plazmu z krve co nejdříve. Používejte pouze čiré, nehemolyzované vzorky.
- Test proveďte ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky delší dobu při pokojové teplotě. Vzorky séra a plazmy lze při teplotě 2–8 °C skladovat po dobu 3 dnů, při teplotě -20 °C po dobu 6 měsíců. Při provádění testu do 2 dnů od odběru je třeba, aby se venepunkcí odebraná krev skladovala při teplotě 2–8 °C. Vzorky plné krve nezmrazujte. Při odběru krve z prstu se musí test provést okamžitě.
- Před testováním nechte vzorky vytemperovat na pokojovou teplotu. Zmrazené vzorky musí být před testováním zcela rozmrazeny a dobře promíchány. Vzorky by se neměly zmrazovat a rozmrazovat opakovaně.
- Při přepravě musí být vzorky zabaleny v souladu s obvyklými předpisy o přepravě etiologických agens.

POSTUP PROVEDENÍ TESTU

Před provedením testu nechte testovací kazetu, vzorek, pufr a/nebo kontrolní prvky vytemperovat na pokojovou teplotu (15–30 °C).

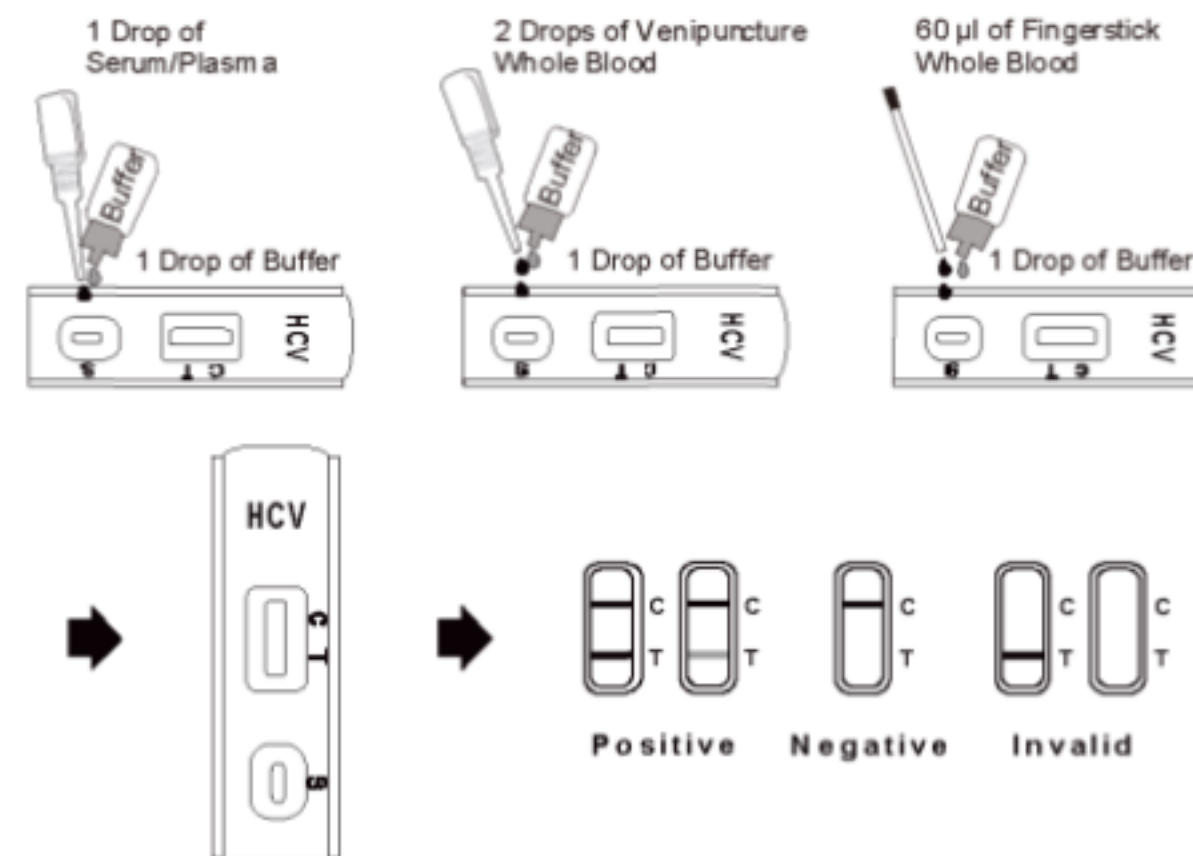
- Testovací kazetu vyjměte z foliového sáčku a použijte ji co nejdříve. Nejlepších výsledků se dosahuje při provedení testu do jedné hodiny.
- Umístěte testovací kazetu na čistou rovnou plochu.

U vzorků séra nebo plazmy: Umístěte kapátko do svislé polohy, do jamky na vzorek (S) přeneste jednu kapku séra nebo plazmy (přibližně 30 µl), vkápněte jednu kapku pufru (přibližně 40 µl) a zapněte časovač. Viz obrázek níže.

U vzorků krve odebrané ze žíly: Umístěte kapátko do svislé polohy, do jamky na vzorek (S) přeneste dvě kapky ze žíly odebrané krve (přibližně 60 µl), vkápněte jednu kapku pufru (přibližně 40 µl) a zapněte časovač. Viz obrázek níže.

U vzorků krve odebrané z prstu: Použijte kapilární trubičku. Naplňte ji přibližně 60 µl z prstu odebrané krve a toto množství umístěte do jamky na vzorek (S) v testovací kazetě, vkápněte jednu kapku pufru (přibližně 40 µl) a spusťte časovač. Viz obrázek níže.

- Počkejte, až se zobrazí barevné linky. **Výsledek by měl být odečten po 15 minutách.** Po 30 minutách už výsledek neinterpretujte.



obrázek:

1 Drop of Serum/Plasma = 1 kapka séra/plazmy	2 Drops of Venipuncture Whole Blood = 2 kapky krve ze žíly
60 µl of Fingertick Whole Blood = 60 µl krve z prstu	Buffer = pufr
1 Drop of Buffer = 1 kapka pufru	Positive Negative Invalid = pozitivní negativní neplatný

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

(Viz obrázek výše.)

Pozitivní: Zobrazí se dvě linky. Jedna barevná linka by měla být viditelná v kontrolní oblasti (C) a druhá v testové oblasti (T).

Negativní: Jedna barevná linka se zobrazí v kontrolní oblasti (C). V testové oblasti (T) se nezobrazí žádná linka.

Neplatný: Kontrolní linka se nezobrazí. Příčinou nezobrazení kontrolní linky obvykle bývá nedostatečný objem vzorku nebo nedodržení správného postupu. Ověřte správnost postupu a test opakujte novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvává, okamžitě přestaňte testovací sadu používat a kontaktujte místního distributora.

KONTROLA KVALITY

Součástí testu je kontrola postupu. Vnitřní kontrolou postupu je zobrazení červené kontrolní linky v kontrolní oblasti (C). Zobrazení linky potvrzuje dostatečný objem vzorku a správnost postupu provedení testu. Normy kontroly nejsou součástí dodávky testovací sady. V rámci správné laboratorní praxe se doporučuje si k potvrzení postupu testování a ověření funkčnosti testu nechat u příslušného orgánu provést kontrolu pozitivní i kontrolu negativní.

OMEZENÍ

- Kazetová sada rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorku plné krve/séra/plazmy) je určena pouze k diagnostickému použití *in vitro*. Test je určen ke zjišťování protilátek proti viru hepatitidy C ze vzorků plné krve, séra nebo plazmy.
- Rychlotest pouze určuje přítomnost protilátek proti viru a neměl by být používán jako jediné kritérium určení diagnózy infekce virem hepatitidy C.
- Stejně jako u všech diagnostických testů musí lékař výsledek vyhodnotit ve spojení s dalšími klinickými informacemi, které má k dispozici.
- Je-li výsledek testu negativní, přestože klinické příznaky přetrvávají, doporučuje se provedení dalšího testu jinou klinickou metodou. Negativní výsledek možnost infekce virem hepatitidy C nevylučuje.
- Test může mít negativní výsledek i tehdy, je-li množství protilátek proti viru hepatitidy C ve vzorku pod hranicí, kterou je test schopen zjistit, nebo nejsou-li zjišťované protilátky v organismu přítomny ve fázi onemocnění, v níž byl vzorek odebrán.
- Očekávané výsledky mohou ovlivnit i některé vzorky s obsahem neobvykle vysokého titru heterofilních protilátek nebo revmatoidního faktoru.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by se konečná klinická diagnóza neměla stanovit na základě výsledku jednoho testu; diagnózu by měl potvrdit lékař na základě vyhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů.
- Výsledky by se neměly používat ke stanovení genotypu infekce virem hepatitidy C.
- Vzhledem k možné křížové reaktivitě nemusí výskyt linek v oblasti T nutně znamenat koinfekci IgG, IgM nebo IgA ani nemůže určovat sérotyp.
- U plné žilní krve se jako antikoagulant doporučují K₂EDTA, heparin sodný, sterilní citrát sodný a heparin lithný. Jiná antikoagulantia nebyla u testu hodnocena.

PARAMETRY FUNKČNOSTI

Relativní citlivost

Kazetovým rychlotestem a komerčně dostupným testem bylo otestováno celkem 506 vzorků, které byly na virus hepatitidy C pozitivní (tabulka č. 1). Relativní citlivost testu je větší než 99 % (95% interval spolehlivosti: 99,27–100 %).

Tabulka č. 1: Citlivost kazetové sady rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorku plné krve/séra/plazmy)

populace	druh vzorku	počet testovaných vzorků	pozitivita rychlotestem na virus hepatitidy C	pozitivita komerčně dostupným testem
anti-HCV (jakýkoli genotyp)	plazma	329	329/329 (100 %)	329/329 (100 %)
anti-HCV (jakýkoli genotyp)	sérum	26	26/26 (100 %)	26/26 (100 %)
anti-HCV (genotyp 1, 2, 3, 4 (kromě subtypu A), 4, 5, 6)	sérum/plazma	151	151/151 (100 %)	151/151 (100 %)
celkem		506	506/506 (100 %)	506/506 (100 %)

Bylo provedeno 30 panelů sérokonverze; podrobnosti o 30 sérokonverzích jsou uvedeny v tabulce níže.

č.	panel	vzorek č.	výsledek
1	PHV 907	7	pozitivní od 0 dnů od prvního odběru
2	PHV 908	13	pozitivní od 3 dnů od prvního odběru
3	PHV 206(M)	25	/
4	PHV 911(M)	5	pozitivní od 3 dnů od prvního odběru
5	PHV 919	7	pozitivní od 28 dnů od prvního odběru
6	PHV 920	10, č. 2 nelze získat z důvodu vyprodání zásob u dodavatele	pozitivní od 16 dnů od prvního odběru
7	HCV 9047	10	pozitivní od 28 dnů od prvního odběru
8	HCV 9046	5	pozitivní od 69 dnů od prvního odběru
9	HCV 6229	8	pozitivní od 17 dnů od prvního odběru
10	HCV 10041	3	pozitivní od 6 dnů od prvního odběru
11	HCV 9041	8	pozitivní od 62 dnů od prvního odběru
12	HCV 9045	8	pozitivní od 37 dnů od prvního odběru
13	HCV 6222	3	pozitivní od 40 dnů od prvního odběru
14	HCV 6224	8	pozitivní od 19 dnů od prvního odběru
15	HCV 6227	7	pozitivní od 75 dnů od prvního odběru
16	HCV 6228	12	pozitivní od 31 dnů od prvního odběru

17	HCV 10071	7	pozitivní od 84 dnů od prvního odběru
18	HCV 6220	6	pozitivní od 18 dnů od prvního odběru
19	HCV 10185	5	pozitivní od 130 dnů od prvního odběru
20	HCV 10235	5	pozitivní od 96 dnů od prvního odběru
21	HCV 6215	4	pozitivní od 20 dnů od prvního odběru
22	HCV 9042	6	pozitivní od 8 dnů od prvního odběru
23	HCV 9058	5	pozitivní od 10 dnů od prvního odběru
24	HCV 9094	5	pozitivní od 9 dnů od prvního odběru
25	HCV 9095	5	pozitivní od 10 dnů od prvního odběru
26	HCV 9055	11	pozitivní od 65 dnů od prvního odběru
27	HCV 9054	10	pozitivní od 72 dnů od prvního odběru
28	HCV 9044	6	pozitivní od 21 dnů od prvního odběru
29	HCV 10165	9	pozitivní od 19 dnů od prvního odběru
30	HCV 6226	12	pozitivní od 39 dnů od prvního odběru

Relativní specifita

Kazetovým rychlotestem a komerčně dostupným testem bylo otestováno celkem 1259 vzorků, které byly na virus hepatitidy C negativní (tabulka č. 2). Relativní specifita testu je větší než 99 % (95% interval spolehlivosti: 99,71–100%).

Tabulka č. 2: Specifita kazetové sady rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorku plné krve/séra/plazmy)

populace	testované vzorky	počet testovaných vzorků	negativní rychlotestem na virus hepatitidy C	negativní komerčně dostupným testem
klinicky negativní	sérum/plazma	202	202/202 (100 %)	202/202 (100 %)
možnost křížové reakce	sérum/plazma	30	30/30 (100 %)	30/30 (100 %)
nevybraní dárči	sérum	1000	1000/1000 (100 %)	1000/1000 (100 %)
inhibiční panel	sérum	27	27/27 (100 %)	27/27 (100 %)
celkem		1259	1259/1259 (100 %)	1259/1259 (100 %)

Srovnání vzorků plné krve, séra a plazmy

Zdravotnické zařízení pacientům odebralo celkem 25 klinicky negativních vzorků (krve, séra, plazmy). Po odběru byla plná krev rozdělena do tří zkumavek. V jedné zkumavce byla uložena plná krev, v druhé plazma a ve třetí sérum (tabulka č. 3). U vzorků na virus hepatitidy C negativních je velmi vysoká korelace mezi výsledky vzorků krve, séra i plazmy.

Tabulka č. 3: Srovnání specifity rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorků plné krve/séra/plazmy) u negativních vzorků krve a párových vzorků séra a plazmy

druh vzorku	počet testovaných vzorků	negativní na HCV Ab
sérum	25	25/25 (100 %)
plazma	25	25/25 (100 %)
plná krev	25	25/25 (100 %)

Kazetovým rychlotestem bylo otestováno celkem 25 pozitivních vzorků plné krve, séra a plazmy (tabulka č. 4). U vzorků na virus hepatitidy C pozitivních je velmi vysoká korelace mezi výsledky vzorků krve a párových vzorků plazmy.

Tabulka č. 4: Srovnání specifity rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorků plné krve/séra/plazmy) u pozitivních vzorků krve a párových vzorků séra a plazmy

druh vzorku	počet testovaných vzorků	pozitivní na HCV Ab
sérum	25	25/25 (100 %)
plazma	25	25/25 (100 %)
plná krev	25	25/25 (100 %)

Přesnost

V sérii

Přesnost v sérii byla stanovena na 20 replikátech čtyř vzorků: negativního, nízkce pozitivního, středně pozitivního a vysoce pozitivního. Negativní, nízkce pozitivní, středně pozitivní a vysoce pozitivní hodnoty byly správně určeny ve více než 99 % času.

Mezi sériemi

Přesnost mezi sériemi byla stanovena v 5 nezávislých sériích na čtyřech stejných vzorcích: negativním, nízkce pozitivním, středně pozitivním a vysoce pozitivním. Na negativních, nízkce pozitivních, středně pozitivních a vysoce pozitivních vzorcích byly otestovány tři různé šarže kazetové sady rychlotestu na virus hepatitidy C (ze vzorků plné krve/séra/plazmy). Vzorky byly správně určeny ve více než 99 % času.

Křížová reaktivita

U vzorků pozitivních na jiné onemocnění, HIV, syfilis, infekční mononukleózu, hepatitidu B, revmatoidní faktor, HAMA, hyper IgG, hyper IgM, protilátky proti hepatitidě A, simplexviru 2, hepatitidě E, viru Epstein-Barr a viru mozaiky okurky, nebyla při testování křížová reaktivita pozorována.

Rušivé látky

Žádná interference nebyla pozorována ve vzorcích s vysokou koncentrací kyseliny močové, kyseliny askorbové, hemoglobinu, kyseliny gentisové, acetaminofenu, kyseliny šťavelové, albuminu, kofeinu, bilirubinu, EDTA, aspirinu a metanolu.

analyty	koncentrace	analyty	koncentrace
kontrola	0	kontrola	0
kyselina močová	0,15 mg/ml	albumin	20 mg/ml
kyselina askorbová	0,2 mg/ml	kofein	0,2 mg/ml
hemoglobin	5,0 mg/ml	bilirubin	0,3 mg/ml
kyselina gentisová	0,2 mg/ml	EDTA	0,2 mg/ml
acetaminofen	1,0 mg/ml	aspirin	0,2 mg/ml
kyselina šťavelová	0,2 mg/ml	metanol	1,0 %

LITERATURA

1. Choo, Q. L., G. Kuo, A. J. Weiner, L. R. Overby, D. W. Bradley a M. Houghton. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 189; 244: 359
2. Kuo, G., Q. L. Choo, H. J. Alter a M. Houghton. An assay for circulating antibodies to a major etiolog Virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362
3. Van der Poel, C. L., H. T. M. Cuyppers, H. W. Reesink a P. N. Lelie. Confirmation of hepatitis C Virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet* 1991; 337: 317
4. Wilber, J. C. Development and use of laboratory tests for hepatitis C infection: a review. *J. Clin. Immunoassay* 1993; 16: 204

REJSTRÍK SYMBOLŮ

	Viz návod k použití.		počet testů v sadě		zplnomocněný zástupce
	pouze pro diagnostické použití <i>in vitro</i>		datum použitelnosti		Není určeno k opakovanému užívání.
	skladování při teplotě 2–30 °C		číslo šarže		katalogové číslo
	výrobce		výstraha		



Healgen Scientific Limited Liability Company
3818 Fuqua Street, Houston, TX 77047, USA.
TEL: +1 713-733-8088 FAX: +1 713-733-8848
Web: www.healgen.com E-mail: sales@healgen.com



QARAD b.v.b.a.
Cipalstraat 3, B-2440 Geel, Belgie

B21304-03
Datum revize: 2020-02-24
Rev.00