

Teste rápido para o diagnóstico da hepatite C - HCV

Os testes rápidos utilizados no diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) baseiam-se na tecnologia de imunocromatografia de fluxo lateral, que permite a detecção do anticorpo anti-HCV em amostras de soro, plasma ou sangue total (por coleta venosa ou punção digital). Esse manual trará informações sobre o teste imunocromatográfico Abon HCV (Hepatitis C Virus Rapid Test Device).

Dispositivo de teste



Janela de Leitura

Poço

Adição de Amostra
Adição de Solução Tampão

O dispositivo de teste denominado cassete tem um local para adição de amostra e da solução tampão que denominaremos poço.

Existe também uma janela de leitura do teste composta pela área de teste T e pela área de controle C, onde as linhas irão aparecer para interpretação do resultado.

Princípio do teste ABON HCV Hepatitis C Virus Rapid Test Device

O Dispositivo Abon HCV (Hepatitis C Virus Rapid Test Device) é um teste rápido para detectar qualitativamente a presença de anticorpos contra antígenos do núcleo, NS3 e NS4 em amostras de sangue total (por coleta venosa ou punção digital), soro ou plasma.



Figura 1 - Kit ABON HCV

Na realização do teste, a amostra e a solução tampão são dispensadas no poço S (de Sample, amostra em inglês).

Ao adicionar a amostra no dispositivo de teste, havendo a presença de anticorpos anti-HCV, estes se ligam ao conjugado composto pelo antígeno recombinante de HCV e ouro coloidal*, que funcionará como revelador do resultado da testagem.

A mistura migrará por uma membrana de nitrocelulose por ação capilar até janela de leitura. Na janela leitura há uma região denominada linha de teste (T), onde também estão fixados antígenos de HCV recombinante e a linha de controle (C) com reagentes específicos do teste que reagem com o conjugado.

À medida que ocorre a migração pela membrana dos complexos conjugado-anticorpo anti-HCV, estes ligam-se aos antígenos de HCV recombinantes fixados na linha de teste (T) propiciando a formação de uma linha visível de coloração avermelhada.

Em seguida, independente da presença de anticorpos anti-HCV na amostra, ocorre a reação dos conjugados com o reagente fixado na linha de controle (C), onde sempre deve aparecer uma linha colorida para que o teste seja válido.

O aparecimento da linha de controle (C) indica que os reagentes estão funcionando corretamente e houve a migração dos componentes pela membrana. Caso a amostra não apresente anticorpos anti-HCV, somente será observada a linha colorida na área de controle (C).

***Ouro coloidal** é o ouro em partículas muito pequenas (nanopartículas). Uma característica importante é que nesse formato de nanopartículas ocorre mudança da cor do ouro que deixa de ser amarelo e se torna vermelho em solução aquosa. É devido a esta característica que o ouro coloidal se tornou tão útil na revelação do resultado de um teste rápido.

Ver referência no final da aula:
Sharma, V., Park, K. &
Srinivasarao, M.

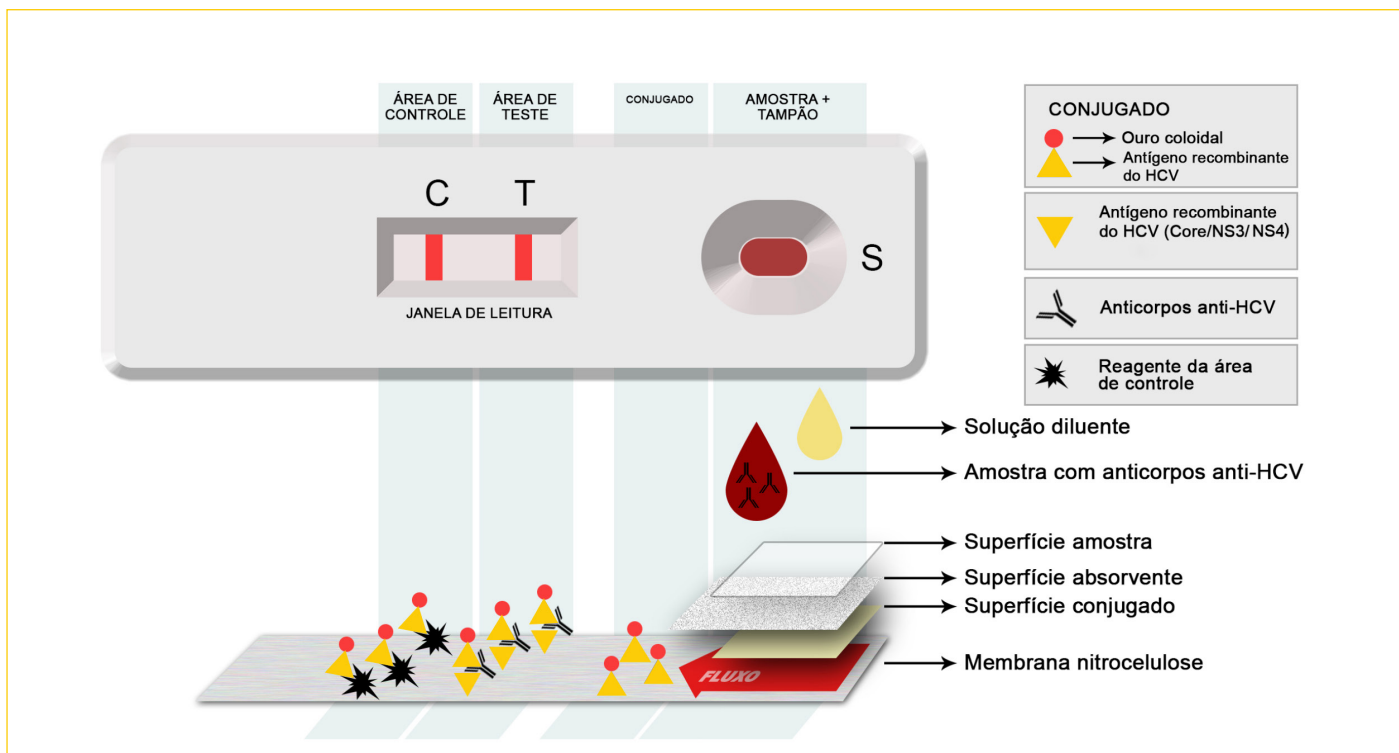


Figura 2 - Princípio metodológico do teste ABON HCV

Composição do kit ABON HCV e materiais complementares

Composição do kit de testes ABON HCV

O conjunto diagnóstico, ilustrado na Figura 3, contém os elementos expostos na sequência de 1 a 6.

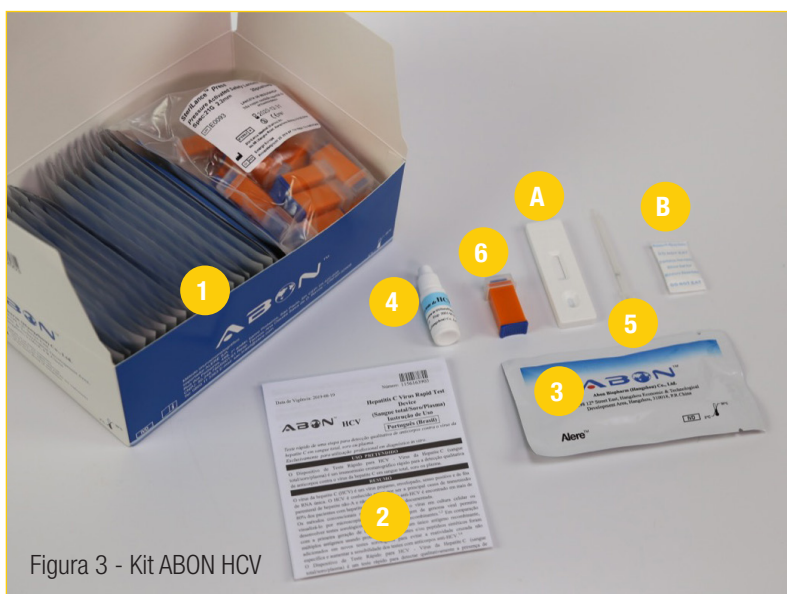


Figura 3 - Kit ABON HCV

1. Kit completo que contém:
2. Instrução de Uso
3. Embalagem de Alumínio contendo:
 - A- Dispositivo de Teste e
 - B- Sachê de Sílica
4. Solução Tampão
5. Tubo Capilar
6. Lanceta



Quando realizar o teste, registre o número do lote do kit no seu protocolo de trabalho. Embora os dispositivos de teste, diluente e lancetas apresentem números de lote individuais, o número do lote a ser considerado é o que está gravado na caixa (embalagem externa). **Jamais utilize testes fora do prazo de validade.**

Materiais complementares

Além dos elementos fornecidos no kit, são necessários os seguintes materiais para a execução do teste rápido:



1. Descarte Biológico e perfurocortante
2. Cronômetro ou Relógio
3. Álcool 70% (p/p)
4. Algodão ou gaze

Equipamentos de Proteção Individual (EPI)



5. Luvas descartáveis
6. Jaleco ou avental
7. Óculos de proteção ou protetor facial*
8. Máscara*
9. Touca*

*EPI opcionais conforme prática de cada serviço.

Você ainda precisará:

- Água sanitária ou solução de hipoclorito de sódio entre 2,0 a 2,5% caso necessário limpeza.
- Caneta tipo marcador para escrever no dispositivo de teste a identificação do indivíduo a ser testado.
- Papel absorvente para forrar a área onde serão feitos os testes rápidos.

Cuidados e precauções para utilização

O manuseio e execução dos testes rápidos necessitam de alguns cuidados.

O teste é exclusivo para diagnóstico *in vitro* e deve ser realizado por pessoas que tenham participado de capacitação técnica, presencial ou por meio de ensino a distância.

- Utilize os reagentes de cada kit até a data de validade definida pelo fabricante, estampada na parte externa da embalagem. Quando acabar a execução do procedimento, o dispositivo de teste e qualquer acessório utilizado no procedimento, deve ser descartado em recipiente apropriado.
- O dispositivo de teste é descartável e deve ser conservado no envelope lacrado até o momento da utilização.
- Cada dispositivo de teste é de utilização única.
- O dispositivo de teste é estável até a data de validade impressa na embalagem lacrada. Não use após a data de validade.
- Para a manipulação do kit, deverão ser adotadas todas as precauções que se aplicam aos produtos potencialmente infecciosos, o que inclui não ingerir nem inalar tais produtos, bem como descartar os seus componentes apenas em local apropriado.



Todas as amostras devem ser consideradas potencialmente infectantes e devem ser manipuladas e descartadas de acordo com as precauções de utilização e descarte recomendadas no Brasil pela RDC/ANVISA nº 222 de 28/03/2018 e suas atualizações, ou em conformidade com a regulamentação em vigor no país de utilização.

- Não usar a lanceta se a respectiva tampa de proteção tiver sido removida previamente.
- As instruções devem ser seguidas com exatidão para obter resultados corretos. Leia os resultados no tempo exigido.
- Não comer, beber ou fumar na área onde as amostras e kits são manuseados.

Condições de armazenamento e estabilidade

Os componentes do kit permanecerão estáveis até a data de validade indicada na parte externa da embalagem, se forem conservados nas condições exigidas, listadas a seguir:

- Manter o dispositivo no envelope lacrado até a utilização.
- Proteger da umidade. O kit deve estar com o sachê contendo gel de sílica intacto.
- O kit ABON Hepatite C - HCV pode ser armazenado em temperatura ambiente ou refrigerada entre 2 a 30°C.
- **NÃO CONGELE O KIT.**
- A solução tampão, após aberta, deve ser conservada fechada em sua embalagem original entre 2 a 30°C até a data de vencimento. Não use após a data de validade.
- O kit pode ser transportado entre 2 e 30°C. Exceções: Transporte no intervalo de 2 dias a 55°C ou em trinta dias a 45°C em condição de umidade de 70±10%, e depois transfira para temperatura de 2 a 30°C para o restante do transporte. Temperaturas na faixa de -20 a 2°C são permitidas, contanto que não haja mais do que 3 ciclos de congelamento/descongelamento em todo o transporte.
- Umidade e temperatura podem afetar adversamente os resultados. Uma vez que a embalagem de alumínio for aberta, use o produto imediatamente. Não utilize o dispositivo de teste se a embalagem já estiver rompida dentro do kit.



Os kits podem ser armazenados em temperatura ambiente (armários ou estantes) e geladeira **desde que dentro da faixa recomendada pelo fabricante**. Caso não seja possível controlar a temperatura do local de armazenamento, os kits devem ser acondicionados em caixas térmicas (**desde que dentro da faixa recomendada pelo fabricante**) e retirados apenas na hora do uso.



Figura 4 - Exemplos de caixas térmicas disponíveis no mercado

Coleta e preparação da amostra

Para realizar o teste rápido é necessário que a coleta da amostra seja feita respeitando as recomendações do fabricante. As recomendações estão descritas na instrução de uso que é fornecida no kit.

A seguir, você acompanhará a instrução passo a passo para a realização do teste rápido.

Antes de iniciar o teste, lembre-se de deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente (caso estejam armazenados na geladeira) e, só então inicie o procedimento:

1



Retire o dispositivo do envelope lacrado e coloque-o numa superfície plana, limpa, livre de vibrações e forrada com material absorvente. Faça a identificação do dispositivo com as iniciais ou o número do indivíduo a ser testado.

2



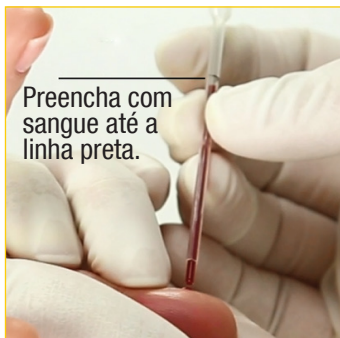
Selecione o dedo para punção, higienize a área com algodão ou gaze embebida em álcool 70% e deixe o álcool secar. Faça a punção no dedo com o auxílio de uma lanceta retrátil.

3



Deixe uma gota de sangue grande se formar no local de punção.

4



Preencha com sangue até a linha preta.

Para a coleta, posicione a pipeta capilar próxima à gota de sangue. Veja que o bulbo possui dois orifícios de ar. Não toque ou aperte o bulbo enquanto preenche o capilar com sangue. Preencha até a marca preta. Não permita a formação de bolhas.

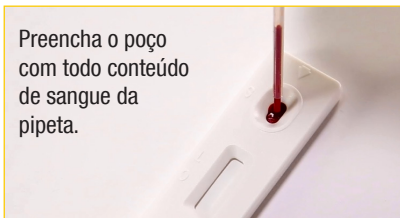


Evite a formação de bolhas durante a aspiração do sangue. Isso pode levar a erros no volume adicionado e à não validação do teste.

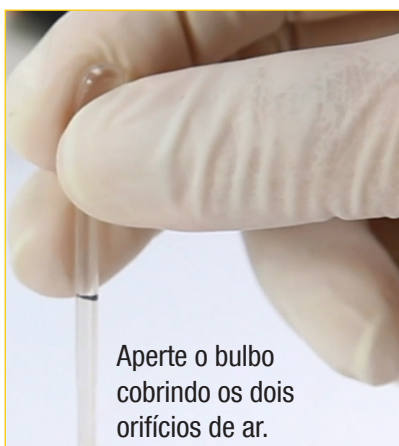


5

Preencha o poço com todo conteúdo de sangue da pipeta.



Em seguida, coloque a pipeta capilar na posição vertical e dispense o volume de 50 MICROLITROS da amostra no poço do dispositivo de teste. **Para dispensar o sangue, o bulbo da pipeta deve ser pressionado cobrindo os dois orifícios de ar.**



Aperte o bulbo cobrindo os dois orifícios de ar.



6

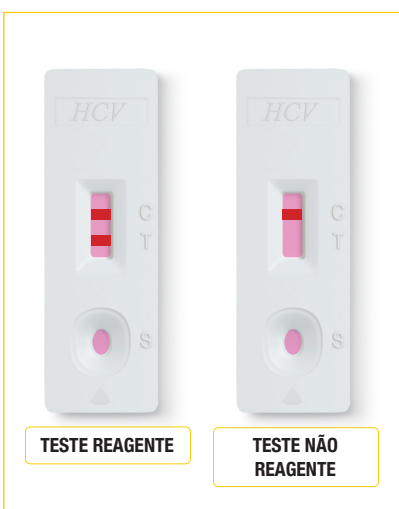


Coloque o frasco na posição vertical e adicione cuidadosamente uma gota de solução tampão ao poço em que foi colocada anteriormente a amostra. Não permita a formação de bolhas.

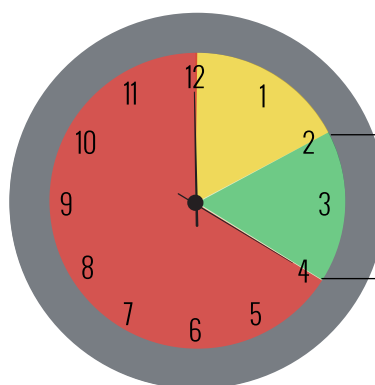


Evite a formação de bolhas ao adicionar a solução tampão. Isso pode levar a erros no volume adicionado e à não validação do teste.

7



Acione o cronômetro e faça a leitura do teste. Será possível fazer a leitura de resultados do teste rápido ABON Hepatite C - HCV depois de decorrido 10 minutos após a adição da solução tampão. Não faça a leitura do teste após 20 minutos.



Não faça a leitura do teste após 20 minutos!

Interpretação dos resultados

Após realizar os procedimentos descritos no passo a passo, é hora de fazer a interpretação dos resultados. Fique atento ao cronômetro. Será possível fazer a leitura de resultados do teste rápido ABON Hepatite C - HCV depois de decorrido 10 minutos após a adição da solução tampão. Não faça a leitura do teste após 20 minutos.



Não realizar a leitura após vinte minutos da adição da solução tampão. Após esse tempo pode ocorrer a ligação inespecífica de proteínas presentes na amostra ao ouro coloidal e a formação de uma linha na área de teste gerando resultados FALSO POSITIVOS. Por isso, um dispositivo onde a aplicação da solução tampão ocorreu há mais de vinte minutos deve ter seu resultado ignorado. O dispositivo deve ser descartado e o teste deve ser repetido com um novo dispositivo.

Resultado não reagente

Quando o resultado for não reagente, aparecerá uma linha de cor rosa na área de controle (C) e não aparecerá nenhuma linha na área de teste (T). (Figura 5).

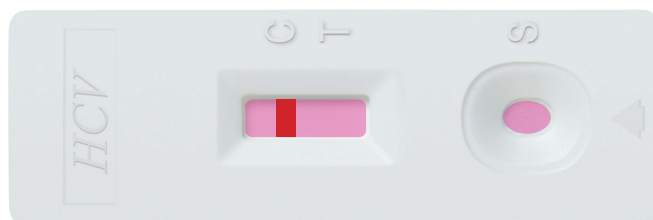


Figura 5 - Resultado não reagente

Resultado reagente

Quando o resultado for reagente, aparecerão duas linhas coloridas, uma, na área Controle (C) e uma, na área de Teste (T). A linha colorida na área de teste (T) poderá apresentar variações na intensidade da cor, porém, mesmo quando a coloração que surgir tiver uma intensidade muito fraca, a amostra será considerada reagente. (Figura 6).

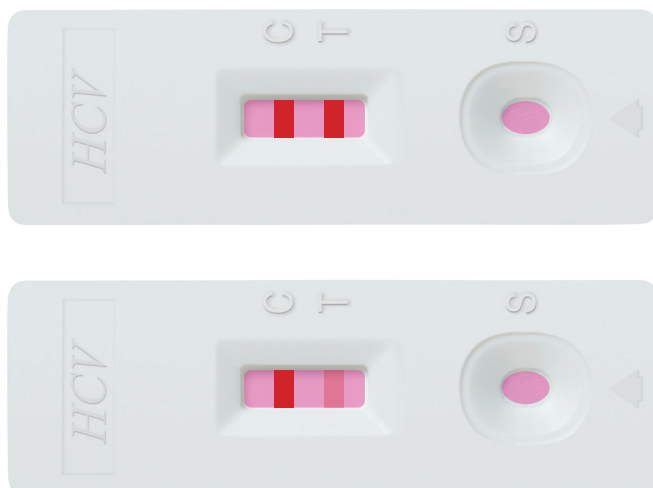


Figura 6 - Resultado reagente

Teste inválido

O teste inclui um sistema de controle interno de migração, representado por uma linha colorida, que aparece na área de controle (C). Conforme é indicado na instrução de uso definidas pelo fabricante, o aparecimento da linha de controle (C) indica que os reagentes estão funcionando corretamente e houve a migração dos componentes pela membrana.

Se a linha de controle (C) não aparecer dentro do tempo máximo de leitura determinado pelo fabricante, o teste será considerado inválido, mesmo que a linha colorida apareça na área de teste (T).

Algumas das causas prováveis para a invalidação (Figura 7) do teste podem ser o armazenamento inadequado dos kits, volume insuficiente de amostra, volume incorreto de tampão e a execução incorreta do teste.

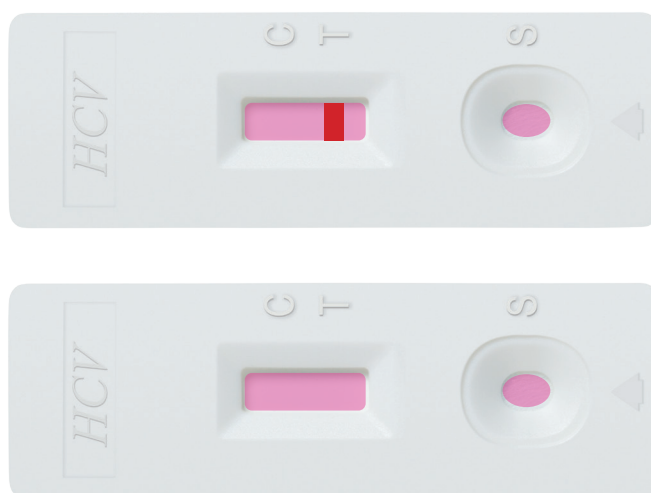


Figura 7 - Teste inválido

Se o teste for inválido, leia novamente as instruções de uso do fabricante e repita o teste com um novo dispositivo, se possível de um lote distinto do que foi utilizado inicialmente.

Guarde o kit com problema, abra um chamado no Serviço de Atendimento do Consumidor da empresa fornecedora do kit, pelo telefone **0800 11 3363**, ou pelo e-mail **sac.brasil@alere.com**. Essa iniciativa é muito importante para o acompanhamento da qualidade dos testes e para que a empresa reponha o quantitativo de testes inválidos ao Ministério da Saúde.

Limitações do teste

- O Dispositivo de Teste Rápido ABON HCV é somente para uso diagnóstico *in vitro*. Esse teste deve ser usado para a detecção de anticorpos anti-HCV em amostras de sangue total (por coleta venosa ou punção digital), soro ou plasma.
- O Dispositivo de Teste Rápido ABON HCV indica a presença de anticorpos anti-HCV na amostra e não deve ser usado como o único critério para o diagnóstico de infecção por vírus da hepatite C.
- Assim como em todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser considerados em conjunto com informações clínicas.
- Se o resultado do teste for não reagente e os sintomas clínicos persistirem, recomenda-se a realização de outros tipos de teste diagnóstico usando outros métodos clínicos. Um resultado não reagente em qualquer momento não exclui a possibilidade de infecção pelo vírus da hepatite C.
- Volumes incorretos de amostra podem gerar resultados falsos.
- É possível que algumas amostras reagentes para HCV com baixa concentração mostrem quimioluminescência positiva, mas o Teste Rápido ABON HCV apresente resultados falso negativos.
- Anticorpos anti-HCV geralmente se tornam detectáveis entre 8 e 12 semanas após a infecção. Após 12 semanas, mais de 90% de pacientes infectados podem ser detectados com anti-HCV reagente. O tempo desde a infecção inicial até a soroconversão é referido como “período de janela sorológica”.

Referências

1. Instrução de Uso do kit ABON HCV Hepatitis C Virus Rapid Test Device (Sangue Total/Soro/Plasma)
2. DOSSIÊ TÉCNICO: ABON HCV Hepatitis C Virus Rapid Test Device (Sangue Total/Soro/Plasma)
3. Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais, 2º Edição, 2018
4. Sharma, V., Park, K., Srinivasarao, M. Colloidal dispersion of gold nanorods. Historical background, optical properties, seed-mediated synthesis, shape separation and self-assembly // Mater. Sci. Eng. 2009.V.65.P 1-38