

MÉTODO

Imunocromatografia (EIC - Ensaio Imunocromatográfico).

FINALIDADE

Kit para determinação qualitativa do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg), por método imunocromatográfico, usando anticorpos mono e policlonais imobilizados na membrana para identificação seletiva de HBsAg em amostras de soro. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Teste Positivo: Os antígenos de superfície HBsAg presentes na amostra ligam-se no conjugado gamaglobulina-corante formando um complexo antígeno-anticorpo. Este complexo flui pela área absorvente da placa-teste, indo se ligar aos anticorpos anti-HBsAg na área da reação positiva (T), determinando o surgimento de uma banda colorida rosa-clara.

Teste Negativo: Na ausência dos antígenos de superfície HBsAg não haverá o aparecimento da banda colorida na área T. A mistura da reação continua a fluir atingindo a área controle (C). O conjugado não ligado ao antígeno une-se aos reagentes desta área produzindo uma banda colorida rosa-clara, demonstrando que os reagentes estão funcionando corretamente.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A hepatite B é definida como inflamação do fígado causada por uma infecção pelo vírus da hepatite B (HBV), que é um vírus do tipo DNA, da família Hepadnaviridae.

O HBV, inicialmente denominado antígeno Austrália, é resumidamente composto de uma região central (core), que contém o material genético do vírus e é recoberta por uma glicoproteína, o antígeno de superfície do vírus da hepatite B ou HBsAg.

O HBV é a causa mais comum de infecção viral crônica. Estima-se que cerca de 350 milhões de pessoas estejam cronicamente infectados pelo HBV e que aproximadamente um terço da população mundial tenha tido exposição ao vírus HBV.

No Brasil, existem áreas de alta prevalência (região da Amazônia Ocidental, com cerca de 12% de portadores crônicos em algumas faixas etárias), prevalência intermediária (região Nordeste) e baixa prevalência (região Sul). Dentro destas áreas, entretanto, alguns grupos apresentam prevalências diferenciadas: politransfundidos, renais crônicos hemodialisados, usuários de drogas ilícitas injetáveis, prostitutas, homossexuais masculinos, profissionais da área de saúde, filhos de mães HBsAg positivas. Estes grupos são considerados de risco e merecem atenção especial no tocante ao diagnóstico e principalmente à profilaxia da doença.

O HBV é transmitido através de secreções corporais, principalmente por contato sexual ou por via parenteral. A transmissão vertical, de mãe para filho, também pode ocorrer durante ou após o parto.

O HBsAg é produzido em excesso pelo vírus, sendo amplamente empregado como teste para detectar a infecção por HBV em curso.

É o primeiro marcador sorológico a surgir na hepatite B, geralmente entre 7 a 20 dias antes da sintomatologia e a sua presença sempre indica presença de infecção. Se persistir positivo por mais de 6 meses indica infecção crônica. A presença de HBsAg pode corresponder a portador inativo do HBV, os pacientes terão níveis de transaminases persistentemente normais e níveis baixos de DNA viral. Quando o HBsAg for positivo deve-se fazer a pesquisa de DNA viral. O desaparecimento do HBsAg indica a resolução da infecção.

Por outro lado, o anticorpo superficial da hepatite B (Anti-HBs) pode aparecer tardiamente na fase convalescente e sua presença indica imunidade.

A concentração de HBsAg em pacientes crônicos raramente apresenta-se menor que 20 UI/mL.

REAGENTE

Conservar entre 2-30 °C. Não congelar.

1. Placa Teste: Composta por uma base plástica onde é acondicionado o filtro de amostra (fibra de vidro), uma base conjugada (fibra de vidro) contendo uma combinação de anticorpos monoclonais e policlonais de fase sólida em forma de sanduíche, duas áreas para detecção seletiva de níveis elevados do antígeno de superfície da hepatite B e uma base absorvente. Todo material montado nesta base plástica é acondicionado em um cassete plástico embalado em sachê de alumínio contendo sílica. Pronta para uso.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo quando conservados bem vedados na temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

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.
- 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.

Usar amostras livres de hemólise, lipemia e contaminação.

Usar amostras recém-coletadas. Caso não seja possível, conservá-la em geladeira (2-8 °C) por um período máximo de 3 dias ou no freezer (-20 °C).

Evitar repetidos congelamentos e descongelamentos, pois isto causará falsos resultados.

Atenção

Se a amostra foi mantida no freezer, ela deverá ser descongelada e homogeneizada completamente. Posteriormente, mantê-la em posição vertical para permitir que qualquer partícula que possa existir em suspensão seja sedimentada.

Não utilizar amostras de plasma e sangue total. O anticoagulante utilizado nestas amostras poderá interferir na partícula de ouro coloidal, prejudicando a qualidade do teste.

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

1. Deixar a placa teste (1) atingir a temperatura ambiente antes de retirá-la do envelope laminado. A placa teste e a amostra devem estar na temperatura ambiente antes do uso.
2. Retirar a placa teste (1) da embalagem e usar imediatamente.
3. Pipetar 100 µL da amostra na cavidade de amostra (A) da placa teste.
4. Fazer a leitura dos resultados em 15 minutos.

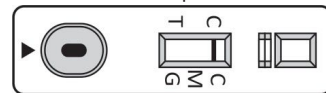
Notas

1. Não considerar resultados após o tempo de 30 minutos.
2. O HBsAg-EIC detecta amostras de soro com concentrações do vírus da hepatite B a partir de 10 UI/mL.

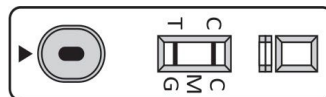
RESULTADOS

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 rosa-clara aparecerá na área do controle (C).



Positivo: Aparecerão duas bandas rosa-claras, 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 antígeno 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).



LIMITAÇÕES DO MÉTODO

1. O HBsAg - EIC é um teste indicado para determinar a fase aguda da hepatite B e indivíduos portadores do vírus.
2. É um teste de triagem para caracterizar a presença de antígenos da hepatite B, portanto, um resultado repetidamente positivo com este teste é uma presumível evidência da presença do vírus na amostra.
3. Resultados positivos deverão sempre ser confirmados por outro teste de metodologia diferente, conforme dispõe o [Manual Técnico para o Diagnóstico de Hepatites Virais](#), do Ministério da Saúde, publicado em 2015.
4. Podem ocorrer resultados falso-positivos e falso-negativos com este teste, cuja proporção dependerá da prevalência da doença na população ensaiada.
5. Como em qualquer procedimento diagnóstico, o resultado deste teste deve ser sempre interpretado 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 DESEMPENHO⁶

Sensibilidade, especificidade e exatidão clínicas

O produto HBsAg-EIC identificou corretamente amostras positivas e negativas de um painel comercial em ensaios realizados comparativamente com um método de eletroquimioluminescência disponível no mercado.

Os resultados dos ensaios realizados demonstraram uma sensibilidade clínica de 100% e uma especificidade clínica de 99%.

Repetibilidade

Os estudos da imprecisão inter-ensaio foram realizados através do ensaio de 10 replicatas em quatro (4) amostras, sendo uma (1) negativa e três (3) positivas.

A amostra negativa e as três (3) positivas foram corretamente identificadas em mais de 99% das vezes.

Reprodutibilidade

Os estudos da imprecisão inter-ensaio foram realizados através de 10 ensaios independentes nas mesmas quatro (4) amostras, sendo uma (1) negativa e três (3) positivas. Foram testados três (3) lotes diferentes do produto, uma vez por mês em um período de três (3) meses.

A amostra negativa e as três (3) positivas foram corretamente identificadas em mais de 99% 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. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz-Fundamentos de Química Clínica. 6a. Edição. Elsevier Editora Ltda. São Paulo, 2008.
2. Blumberg, BS. The Discovery of Australian Antigen and its relation to viral hepatitis. *Vitro*.7:223,1971.
3. Sjogren, M.H.: Serologic diagnostics of viral hepatitis. *Gastroenterol Clin North Am*, 23(3): 457-77, 1994.
4. Strauss, E.; Saez-Alquezar, A.; Takeda, A. et al.: Acute hepatitis B in a patient previously positive for antibody to surface antigen (anti-HBs) determined by radioimmunoassay. Case report and review of the literature. *Rev. Med. Trop. São Paulo*, 27(5):258-63, 1985.
5. Clement, F.; Dewint, P.; Leroux-Roels, G. Evaluation of a new rapid test for the combined detection of hepatitis B virus surface antigen and hepatitis B virus e antigen. *Journal of Clinical Microbiology* 40(12): 4603-4606. 2002

APRESENTAÇÃO

Ref.	Nº de testes	Reagentes	Quantidade
532	20	Placa Teste	20

Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda.

Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira - MG

CEP: 35903-053 Tel.: (31) 3067-6400

CNPJ 42.837.716/0001-98

Fabricado por Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363, Carlos Prates,

Belo Horizonte - MG CEP:30710-020

Te.: (31)3272-1888 CNPJ: 03.142.794/0001-16

Registro MS 8002230166

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

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

A In Vitro Diagnóstica 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

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 12/20