

Kit HBsAg - Teste rápido para diagnóstico da Hepatite B

Finalidade do Teste

O kit HBsAg da marca Assure Test é um imunoenensaio cromatográfico para detecção rápida e qualitativa do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg), subtipos ad e ay, em amostras de soro, plasma e sangue total (por coleta venosa ou punção digital).

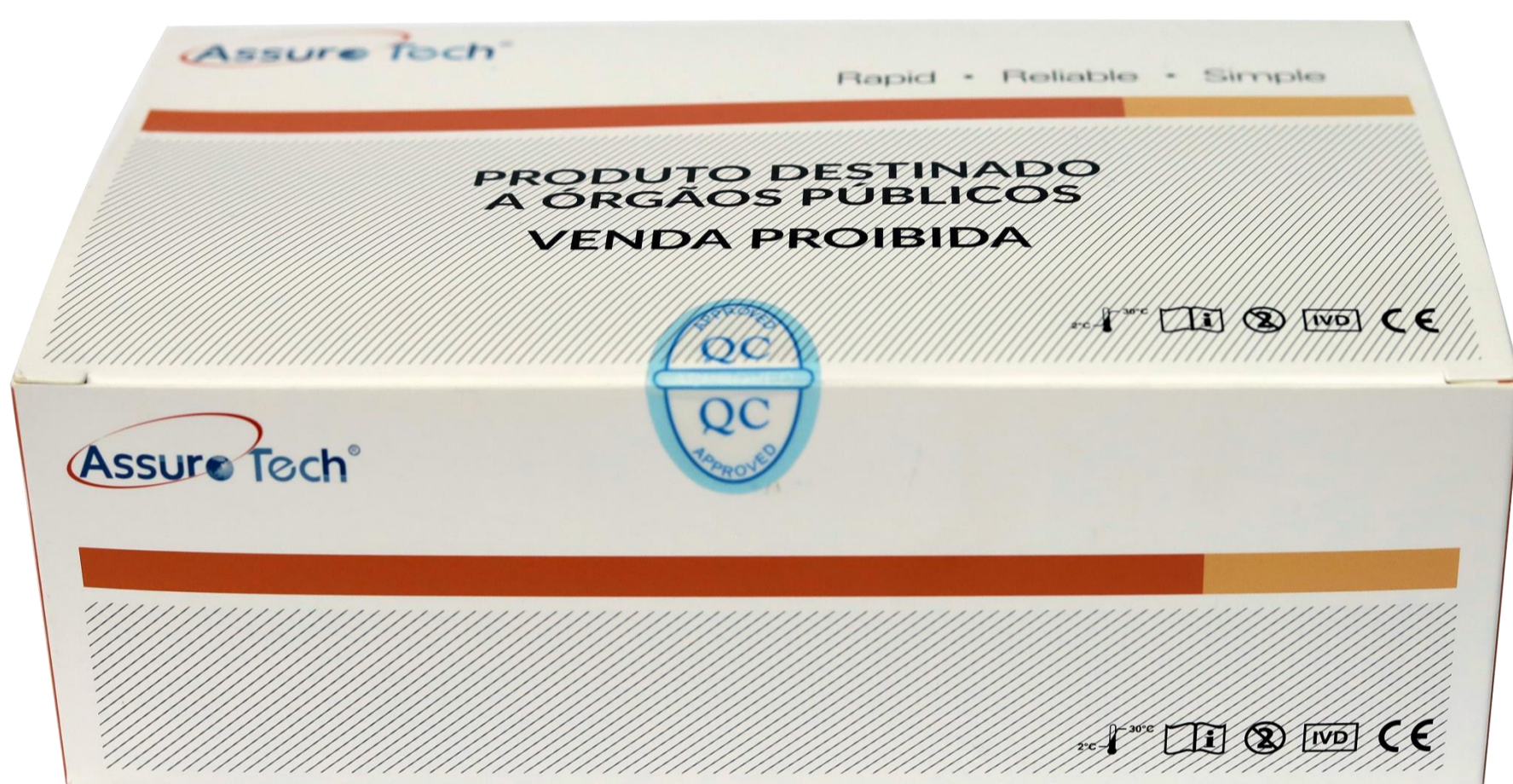


Figura 1: Kit HBsAg Assure Test

Dispositivo de Teste

O dispositivo de teste, denominado também de cassete, apresenta a **janela de leitura** composta pela região de teste (T) e pela região de controle (C), onde as linhas irão aparecer para a interpretação do resultado do teste.

Há também o **poço de amostra S (de Sample, amostra em inglês)** que é o local para adição da amostra e da solução tampão.



Figura 2: Dispositivo de teste do kit HBsAg Assure Test

Princípio do Teste

O método utiliza uma membrana de nitrocelulose pré-revestida com anticorpos anti-HBsAg na região de teste (T) que reagem com os antígenos de HBsAg presentes em amostras de soro, plasma e sangue total (por coleta venosa ou punção digital).

Ao adicionar a amostra no dispositivo de teste, havendo a presença de antígenos de superfície do vírus da Hepatite B, estes se ligam ao conjugado composto pelos anticorpos anti-HBsAg associados ao ouro coloidal (que funcionará como revelador do resultado da testagem), formando um complexo antígeno-anticorpo.

Após a adição do diluente, a mistura migrará através da membrana de nitrocelulose por ação capilar até a janela de leitura. Na região de teste (T) há anticorpos anti-HBsAg imobilizados. À medida que o complexo antígeno-anticorpo se liga na região de teste (T) uma linha colorida se formará. A presença desta linha na região de teste indica um resultado reagente.

Em seguida, independente da presença de HBsAg na amostra, os conjugados que não se ligaram na região de teste continuam a migrar até a região de controle (C), onde reagem com um anticorpo fixado, formando uma linha colorida que sempre deverá aparecer para que o teste seja válido. O aparecimento desta linha C indica que o procedimento do teste foi realizado de maneira adequada e que os reagentes e a membrana estão funcionando corretamente.

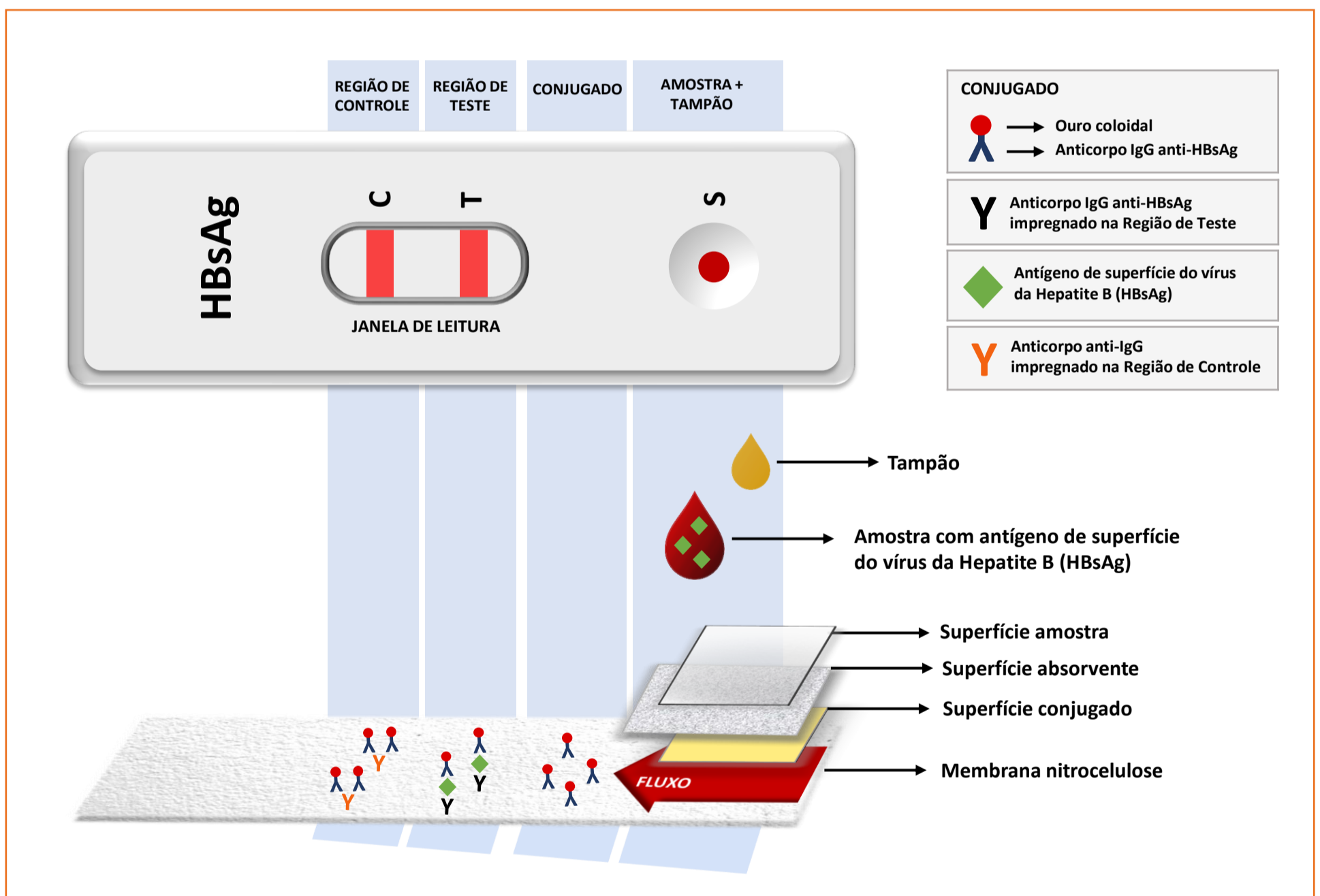


Figura 3: Princípio metodológico do Kit HBsAg Assure Test

Composição do Kit HBsAg Assure Test

O kit diagnóstico HBsAg Assure Test é composto pelos seguintes itens enumerados de 1 a 8:

COMPONENTES DO KIT:



- 1 - Embalagem de alumínio contendo:

 - 2 - Dispositivo de Teste (denominado cassete)
 - 3 - Pipeta plástica descartável
 - 4 - Sachê de sílica dessecante

- 5 - Tampão diluente
- 6 - Lanceta de segurança
- 7 - Bula ilustrativa colorida
- 8 - Instrução de uso



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

Materiais Complementares

Além dos itens fornecidos no kit, são necessários os seguintes materiais para a realização do teste:



- 1 - Descarte biológico e perfurocortante
- 2 - Cronômetro ou relógio
- 3 - Álcool 70% (p/p)
- 4 - Algodão ou gaze

Obs.: Outros materiais (como caneta tipo marcador para identificação do cassete com o nome do paciente e papel absorvente para forrar a área onde será feito o teste) devem ser usados conforme a técnica a ser realizada.

Equipamentos de Proteção Individual

Os seguintes Equipamentos de Proteção Individual (EPI) são necessários para a execução do teste:



- 1 - Jaleco ou avental
- 2 - Luvas descartáveis
- 3 - Óculos de proteção ou protetor facial*
- 4 - Touca*
- 5 - Máscara*

*EPIs opcionais conforme prática de cada serviço

Cuidados e Precauções

Este teste é exclusivo para diagnóstico *in vitro* e deve ser realizado por profissionais de saúde. A correta execução dos testes necessita dos seguintes cuidados:

- Não utilizar o kit de teste após a data de validade impressa na embalagem de alumínio e no rótulo do produto.
- Não utilizar se a bolsa de alumínio estiver danificada ou aberta.
- O dispositivo de teste e a pipeta devem permanecer dentro da embalagem de alumínio fechada até o momento da realização do teste.
- Não misturar reagentes de kits com mesmo lote ou com número de lotes diferentes.
- O cassete (dispositivo de teste), a pipeta e a lanceta são descartáveis e não podem ser reutilizados.



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.

- Manusear todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Respeite as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos durante todo o procedimento e siga os procedimentos padrão e os regulamentos locais para o descarte adequado das amostras.
- Use os equipamentos de proteção individual, como jalecos de laboratório, luvas descartáveis e proteção para os olhos quando as amostras estiverem sendo testadas.
- Não usar a lanceta se estiver sem a respectiva tampa de proteção.
- As instruções devem ser lidas e seguidas cuidadosamente.
- Não comer, beber ou fumar na área onde as amostras e kits são manuseados.

Armazenamento e Estabilidade

Os componentes do kit permanecerão estáveis até a data de validade indicada no rótulo da embalagem, se forem conservados nas condições listadas a seguir:

- O kit deve ser armazenado de 2 a 30°C, conforme indicado no rótulo do kit.
- Os componentes devem ficar armazenados na embalagem original do produto.
- **NÃO CONGELAR.**
- Não expor o kit ao sol ou a altas temperaturas.
- Proteger da umidade. O kit deve estar com o sachê de gel de sílica intacto.
- A solução tampão, após aberta, deve ser conservada fechada em sua embalagem original de 2 a 30°C até a data de vencimento.
- O kit pode ser transportado de 2 a 30°C.
- Umidade e temperatura podem afetar adversamente os resultados. Uma vez que a embalagem de alumínio for aberta, use o produto imediatamente.



Os kits podem ser armazenados em temperatura ambiente (armários ou estantes) e geladeira **desde que dentro da faixa recomendada pelo fabricante (de 2 a 30°C).**

Caso não seja possível controlar a temperatura do local de armazenamento, os kits devem ser acondicionados em caixas térmicas (**desde que na faixa de 2 a 30°C**) e retirados **apenas na hora do uso.**



Figura 5 : Modelos de caixas térmicas

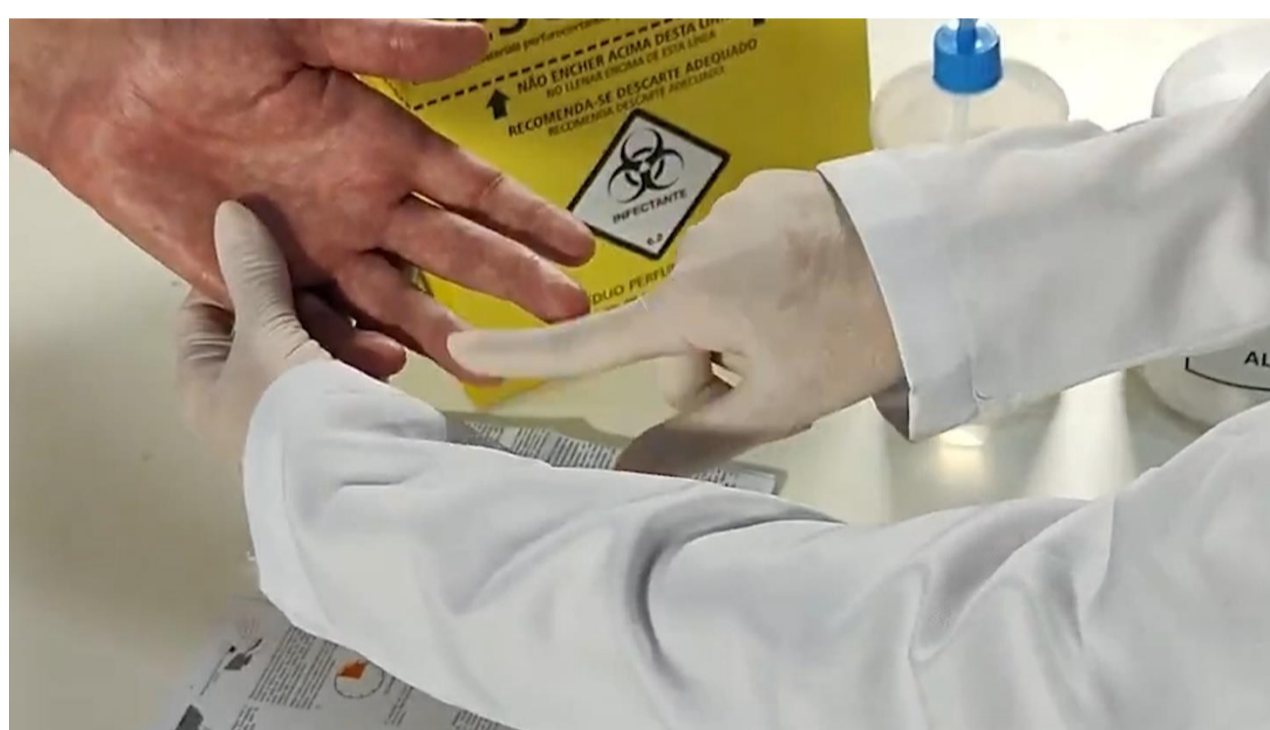
Procedimento de Teste

Antes de iniciar o teste é necessário que o kit esteja à temperatura ambiente. Siga, então, as seguintes etapas para a realização do teste rápido.

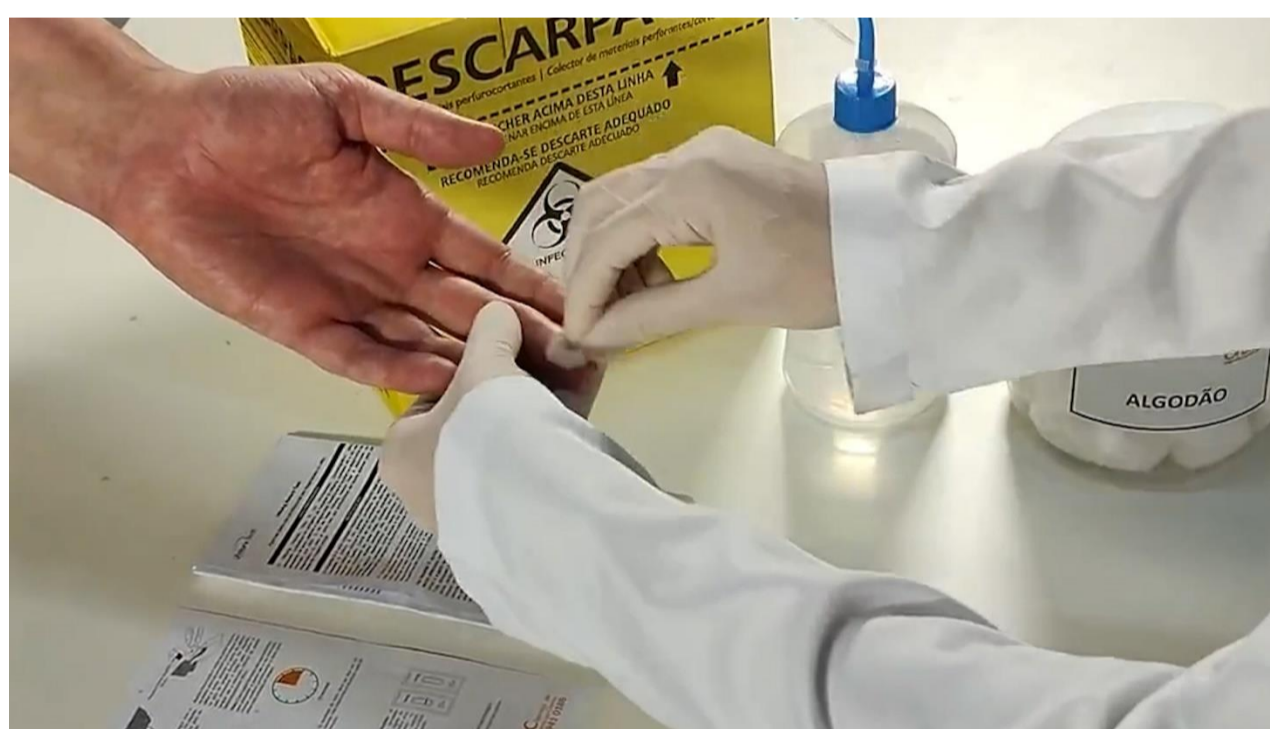
- 1 Retire o dispositivo de teste (cassete) do envelope lacrado e coloque-o em uma superfície limpa e plana. Identifique o dispositivo com nome, iniciais ou número do paciente a ser testado.



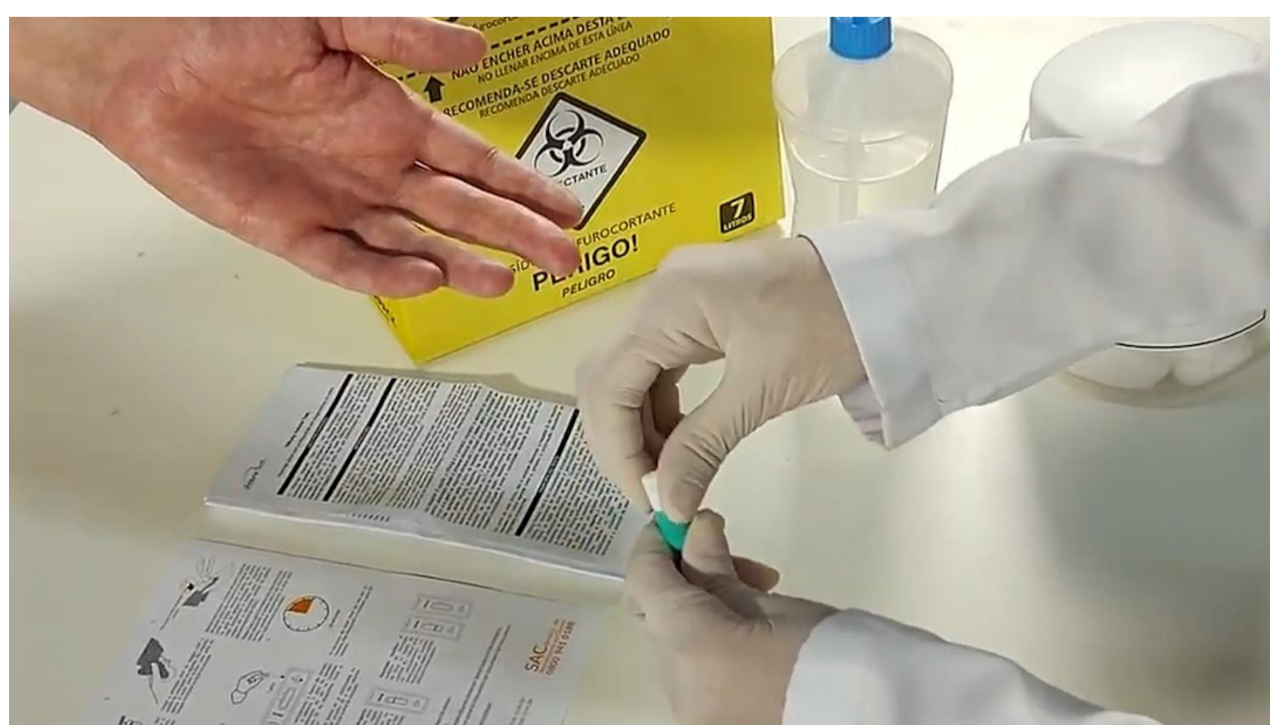
- 2 Selecione um dos dedos do paciente (de preferência dedo anelar ou médio da mão não dominante) para punção. Massageie a mão do paciente, esfregando-a em direção à ponta do dedo à ser puncionado.



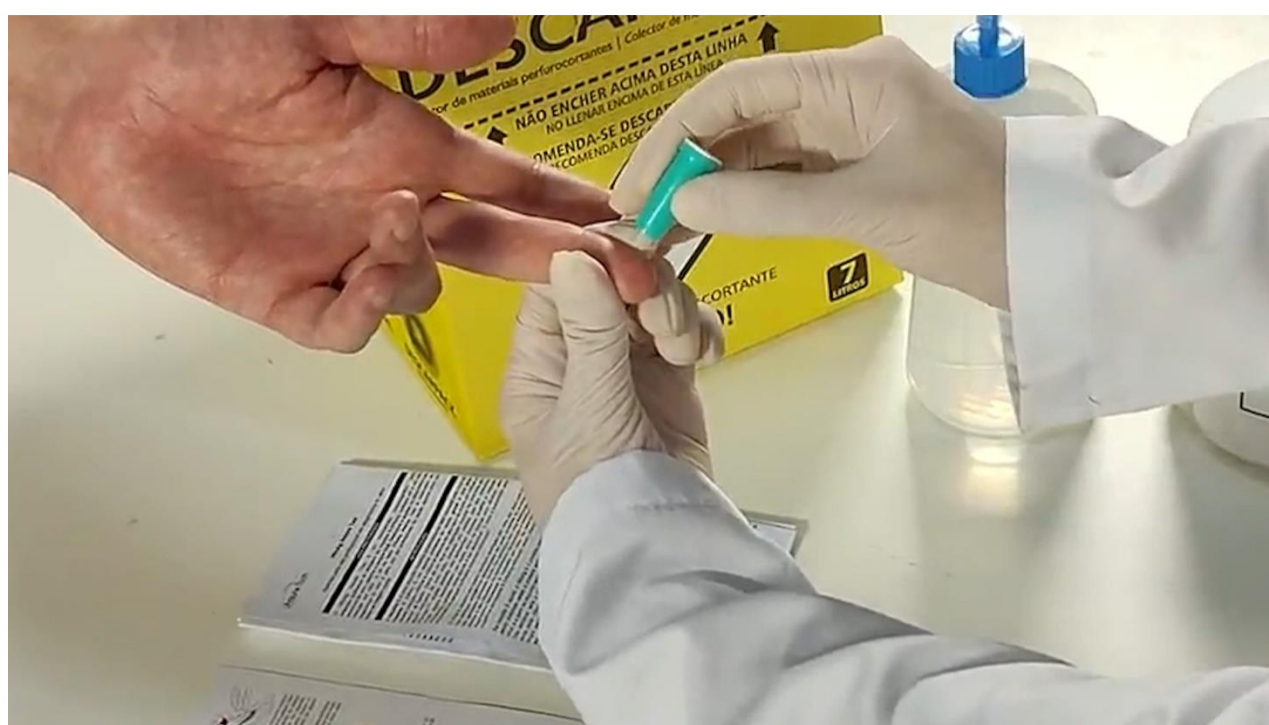
- 3 Limpe a ponta do dedo onde será feita a coleta com algodão ou gaze embebido em álcool 70%. Deixe o álcool secar.



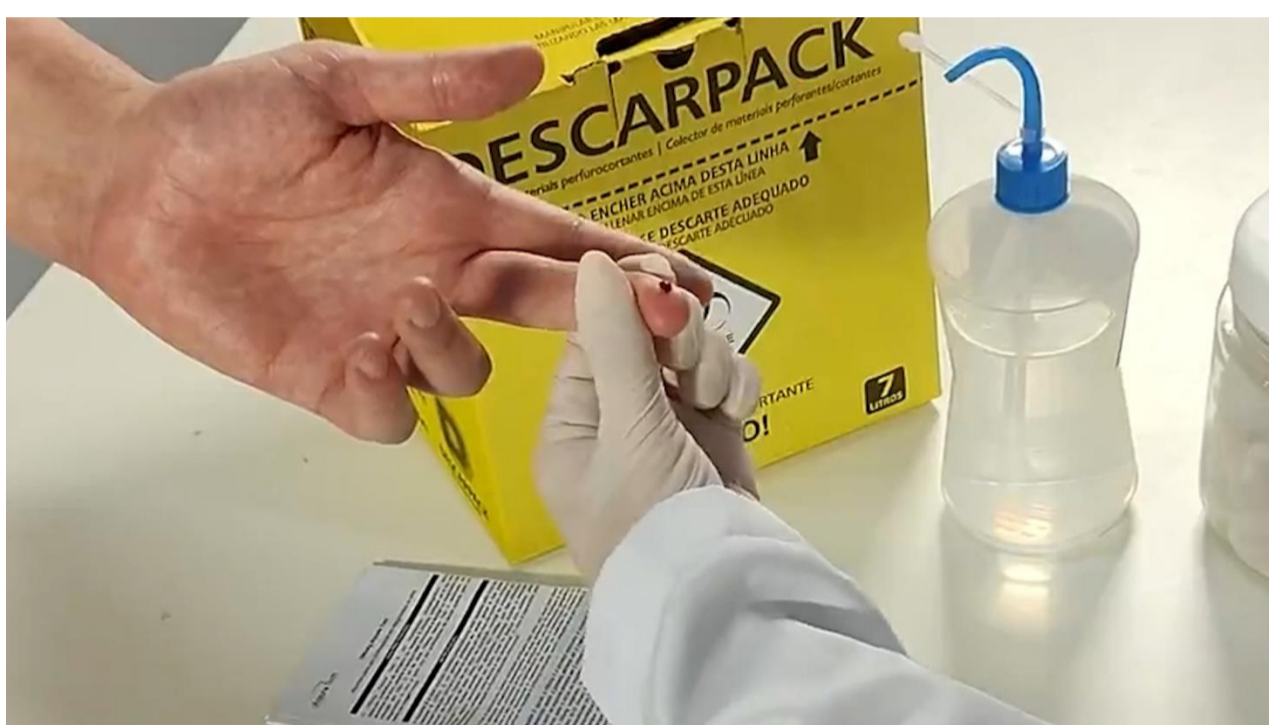
- 4 Segure e gire firmemente a tampa protetora da lanceta de segurança até que fique parcialmente solta. Puxe a tampa cuidadosamente para removê-la.



- 5 Aperte as laterais da ponta do dedo a ser puncionado. Posicione e pressione a lanceta com firmeza neste dedo para perfurá-lo. Descarte a lanceta no recipiente de objetos perfurocortantes logo após usá-la.



- 6 Limpe o primeiro sinal de sangue que sair com o auxílio de uma gaze ou algodão seco. Em seguida, aperte o dedo puncionado para formar uma gota de sangue volumosa no local da punção.



- 7 Coletar o sangue com auxílio da pipeta plástica que acompanha o kit: aperte firmemente o bulbo (na parte superior da pipeta) antes de encostar a pipeta no sangue. Sem soltar o bulbo, encoste a ponta da pipeta na gota de sangue formada. Em seguida, solte lentamente o bulbo para aspirar o sangue até a marcação inferior da pipeta (aproximadamente 50 µL).

Nota: Caso a gota formada não seja suficiente para preencher a pipeta até a sua marcação inferior, continue pressionando o dedo para obter mais amostra de sangue.



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

- 8 Com a pipeta na posição vertical, pressione o bulbo da pipeta para dispensar todo o volume de amostra coletada (aproximadamente 50 µL) na cavidade de amostra (S) do dispositivo de teste.



- 9 Segure verticalmente o frasco do tampão diluente e adicione cuidadosamente uma gota de tampão (aproximadamente 40 µL) na cavidade de amostra (S) do dispositivo de teste.

Nota: Evite a formação de bolhas de ar aprisionadas na cavidade de amostra (S) e não adicione nenhuma solução à janela de leitura de resultado. Não encoste o tubo do tampão diluente na amostra.



- 10 Inicie o cronômetro. O resultado do teste deve ser lido 15 minutos após a adição da solução tampão. Não interpretar o resultado após 20 minutos.



15 minutos

20 minutos

Não faça a leitura do teste após 20 minutos

Interpretação dos resultados

• RESULTADO REAGENTE

O resultado é considerado **REAGENTE** para HBsAg quando há a formação de duas linhas coloridas na janela de leitura: uma linha na região de controle (C) e uma linha na região de teste (T). A presença da linha (T), mesmo em coloração fraca, indica resultado reagente.

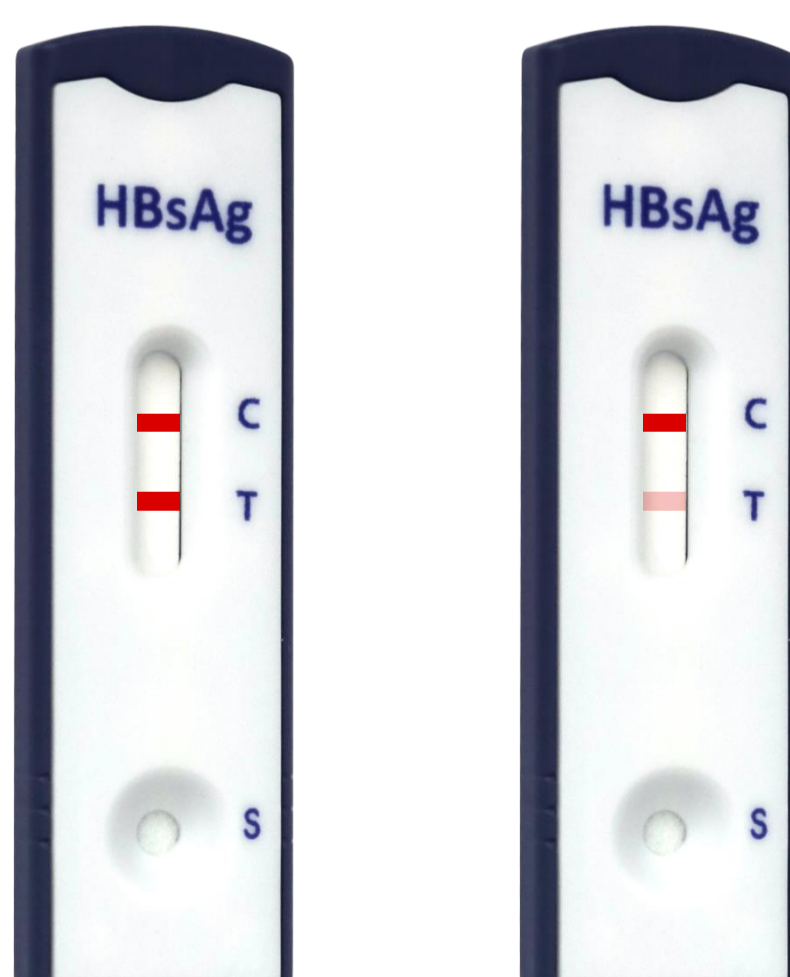


Figura 6 : Resultados reagentes para HBsAg

• RESULTADO NÃO REAGENTE

Quando o resultado for **NÃO REAGENTE**, aparecerá somente uma linha colorida na região de controle (C) e não aparecerá nenhuma linha na região de teste (T).

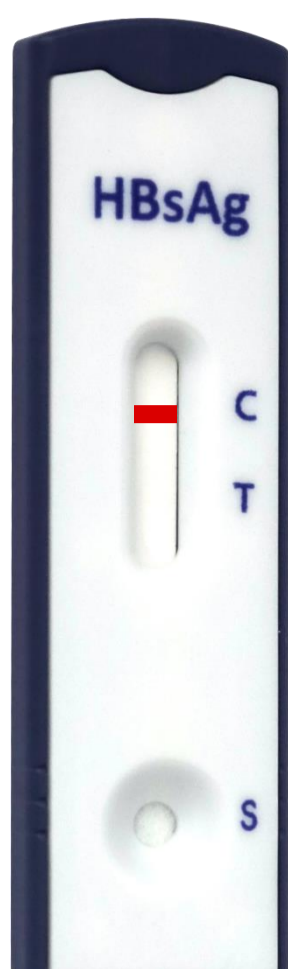


Figura 7 : Resultado não reagente para HBsAg

• RESULTADO INVÁLIDO

O teste inclui um sistema de controle interno de migração, representado por uma linha colorida que aparece na região de controle (C). Conforme indicado na instrução de uso definida pelo fabricante, o aparecimento da linha de controle (C) indica que o teste foi feito corretamente e que os reagentes estão funcionando.

Se a linha de controle (C) não aparecer dentro do tempo de leitura determinado pelo fabricante - entre 15 e 20 minutos após a adição do tampão diluente - o teste será considerado inválido, mesmo que alguma linha colorida apareça na região de teste (T).

Algumas das possíveis causas de um teste inválido são o armazenamento inadequado dos kits, volume insuficiente de amostra, volume incorreto de tampão, dentre outros fatores.



Figura 8 : Testes inválidos

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.

Se o problema persistir, não utilize mais nenhum teste deste kit. Guarde o kit utilizado e abra um chamado imediatamente no **Serviço de Atendimento ao Cliente (SAC)** da Orbitae, pelo telefone **0800 941 0188** ou pelo e-mail **sac@orbitae.com.br** ou pelo site **orbitae.com.br**, clicando na aba Contato.

Essa ação é muito importante para o acompanhamento da qualidade dos testes e para que a empresa reponha o quantitativo de testes que apresentarem intercorrências ao Ministério da Saúde.

Limitações do teste

1. O HBsAg Assure Test é somente para uso profissional em diagnóstico *in vitro*, e deve ser usado para a detecção qualitativa de HBsAg em amostras de sangue total (por punção venosa ou punção digital), soro ou plasma.
2. O HBsAg Assure Test indicará apenas a presença de HBsAg na amostra e não deve ser usado como único critério para o diagnóstico de infecção por vírus da hepatite B (HBV).
3. Para confirmação de resultados reagentes, as amostras devem ser submetidas a testes laboratoriais, de acordo com um algoritmo de teste de diagnóstico de hepatite B validado.
4. Tal como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis.
5. Os resultados não devem ser usados para determinar o sorotipo de infecções por HBV.
6. Resultados falso reagentes podem surgir devido a danos nos componentes do kit de teste por calor ou umidade, quando outros componentes (por exemplo, tampão ou pipeta descartável) são substituídos entre os kits de teste.
7. Os testes podem apresentar resultado reagente devido à vacinação recente contra o HBV, mas é improvável que essa reatividade persista 14 dias após a vacinação. Recomenda-se realizar ou repetir o teste a partir do 15º dia após a vacinação contra hepatite B.
8. Resultados falso-negativos podem surgir quando os níveis de HBsAg são muito baixos ou muito altos (efeito pró-zona de alta dose), o volume de amostra adicionado é insuficiente ou os componentes do teste foram afetados por calor ou umidade.
9. Resultados falso-negativos podem ser observados em indivíduos que estão recebendo terapia antiviral eficaz para hepatite B.
10. Na hepatite B aguda, o HBsAg é o primeiro marcador a aparecer no sangue, sendo detectado desde a primeira semana até 2 meses após a exposição ao vírus, e a partir da segunda semana até 2 meses após o começo dos sintomas.
11. Em caso de resultado não reagente e permanência da suspeita da infecção, repetir o teste utilizando nova amostra após 30 dias.

Manual Técnico do Ministério da Saúde

Segundo o Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais, aprovado pelo Ministério da Saúde através da Portaria SVS/MS nº 25, de 1º de dezembro de 2015, um resultado reagente para HBsAg no teste inicial deve ser confirmado. Deverá ser coletada amostra para complementação diagnóstica utilizando testes laboratoriais. Conheça a rede de serviços na sua região para poder fazer o correto encaminhamento.

Para as orientações do Ministério da Saúde sobre o diagnóstico da Hepatite B, acesse o manual na página www.gov.br/aids/pt-br/central-de-conteudo/manuais-tecnicos-para-diagnostico

SAC Orbitae

Qualquer dúvida durante a realização dos testes favor entrar em contato através do telefone do SAC **0800 941 0188** ou pelo e-mail **sac@orbitae.com.br** ou pelo site **orbitae.com.br**, clicando na aba Contato.

Referências

- Instrução de Uso do kit HBsAg da marca Assure Tech.
- Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais, Ministério da Saúde, 2ª Edição, 2018.