

USO PREVISTO

La Prueba Rápida Hepatitis B es un ensayo inmunocromatográfico rápido de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) en muestras de sangre total, suero y plasma humanos. El producto se puede utilizar como ayuda en el diagnóstico de la infección por el virus de la hepatitis B. Un resultado reactivo debe confirmarse mediante otro(s) ensayo(s) complementario(s).

INTRODUCCIÓN

La hepatitis B es una infección hepática posiblemente mortal causada por el virus de la hepatitis B (VHB). Es un importante problema de salud mundial. Puede causar una infección crónica y pone a las personas en alto riesgo de muerte por cirrosis y cáncer de hígado. Alrededor de un tercio de la población mundial se ha infectado en algún momento de su vida, incluidos 343 millones que tienen infecciones crónicas^{1,2,3}. Muchas personas no presentan síntomas durante la infección inicial¹. Algunos desarrollan un inicio rápido de la enfermedad con vómitos, piel amarillenta, cansancio, orina oscura y dolor abdominal¹. El virus se transmite por exposición a sangre o fluidos corporales infecciosos¹.

El virus se divide en cuatro serotipos principales (adr, adw, ayr, ayw) según los epitopos antigénicos presentados en las proteínas de su cubierta y en ocho genotipos principales (A-H). Los genotipos tienen una distribución geográfica distinta y se utilizan para rastrear la evolución y transmisión del virus. HBsAg es el antígeno de superficie del VHB e indica una infección actual por hepatitis B. Las personas que siguen siendo HBsAg positivas durante al menos seis meses se consideran portadoras de hepatitis B¹. Los portadores del virus pueden tener hepatitis B crónica, lo que se reflejaría en niveles elevados de alanina aminotransferasa (ALT) sérica e inflamación del hígado, si se encuentran en la fase de eliminación inmunitaria de la infección crónica.

No es posible, desde el punto de vista clínico, diferenciar la hepatitis B de la hepatitis causada por otros agentes virales y, por lo tanto, la confirmación del diagnóstico por laboratorio es esencial. El diagnóstico de laboratorio de la infección por hepatitis B se centra en la detección del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). La OMS recomienda que todas las donaciones de sangre se sometan a pruebas de hepatitis B para garantizar la seguridad de la sangre y evitar la transmisión accidental a las personas que reciben hemoderivados.

PRINCIPIO

La Prueba Rápida Hepatitis B detecta HBsAg a través de la interpretación visual del desarrollo de color en la tira interna. Los anticuerpos monoclonales anti-HBsAg se inmovilizan en la región de prueba de la membrana.

Durante la prueba, la muestra se agrega al pocillo de la muestra, comenzando así la migración. La muestra pasa por la almohadilla conjugada que contiene anticuerpos anti-HBsAg conjugados con partículas de oro coloidal. Si hay suficiente HBsAg presente en la muestra, los antígenos reaccionarán y se unirán al conjugado de anticuerpos. La mezcla conjugada de antígeno/anticuerpo luego migra más a través de la membrana y se une a los antígenos presentes en la línea de prueba, y se formará una unión coloreada en la región de prueba. La presencia de esta banda de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

A medida que el líquido continúa migrando por la tira reactiva, aparece la línea de control. La aparición de esta banda coloreada en la región de control sirve como control del procedimiento, lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

MATERIALES

MATERIALES PROPORCIONADOS

- Sobre de aluminio que contiene:
 - a) Dispositivo de prueba (Tipo cassette)
 - b) Desecante
- Inserto (Instrucciones de uso)
- Pipeta (gotero) graduada
- 01 Buffer de 5mL (presentación x 25, 30, 40),
- 02 Buffer de 5mL (presentación x 50),
- 03 Buffer de 5mL (presentación x 100)
- Pipeta (gotero) graduada

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Envase colector de muestras
- Centrifuga
- Lanceta 21G de 1.8mm
- Temporizador
- Alcohol prep pad

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.
- Lea atentamente estas instrucciones antes de realizar la prueba.
- No utilice la prueba más allá de la fecha de caducidad.
- No utilice la prueba si el envase está dañado.
- No reutilice las pruebas.
- Aplique las precauciones estándar de bioseguridad al manipular y desechar materiales potencialmente infecciosos.
- Manipule todas las muestras como potencialmente infecciosos.
- Use ropa protectora como guantes, batas de laboratorio y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
- El dispositivo de prueba y el accesorio deben desecharse en un contenedor adecuado para desechos biopeligrosos después de la prueba.
- No coma, no beba, ni fume en el área donde se manipulan las muestras y los kits.
- Evite las salpicaduras y limpie los derrames inmediatamente con un desinfectante adecuado.
- El buffer contiene azida sódica al 0,02 % como conservante, que puede ser tóxico si se ingiere. Cuando se desheche a través de un fregadero, enjuague con grandes cantidades de agua.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un recipiente de recolección de muestras nuevo para cada muestra obtenida.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados.
- No utilice ninguna otra muestra que las especificadas. Para sangre venosa total y plasma, se pueden usar como anticoagulantes EDTA, citrato de sodio, heparina de sodio u oxalato de potasio.
- Los materiales de prueba usados deben desecharse de acuerdo con los reglamentos locales.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El kit debe almacenarse de 2-30 °C hasta la fecha de caducidad impresa en el sobre sellado.
- La prueba debe permanecer en el sobre sellado hasta su uso.
- No congele el kit.
- Proteja el kit de la humedad.
- Se debe tener cuidado para proteger los componentes del kit de la contaminación. No use la prueba si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del equipo de dosificación, los contenedores o los reactivos puede dar lugar a resultados falsos.

RECOLECCIÓN Y PREPARACION DE MUESTRAS

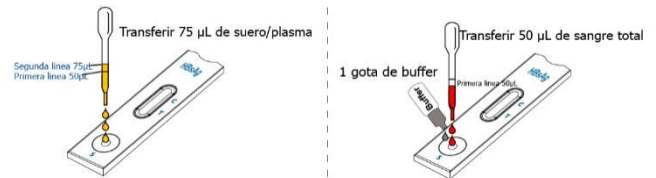
- La Prueba Rápida Hepatitis B está diseñado para usarse únicamente con muestras de sangre total, suero o plasma humano.
- Recoja las muestras de acuerdo con el procedimiento de flebotomía seguro.
- Solo se recomienda el uso de muestras claras, no hemolizadas para esta prueba. El suero o plasma deben separarse lo antes posible para evitar la hemólisis.
- Realice la prueba inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar de 2-8 °C durante un máximo de 7 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben estabilizarse por debajo de -20°C. La sangre total recolectada por punción venosa debe almacenarse de 2-8 °C si la prueba se va a realizar dentro de los 3 días posteriores a la recolección. No congele las muestras de sangre total.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Deben evitarse los ciclos múltiples de congelación/descongelación.
- Si se van a enviar muestras, empáquelas de acuerdo con todas las normas aplicables para el transporte de agentes biológicos.
- Los sueros ictericos, lipemicos, hemolizados, tratados térmicamente y contaminados pueden causar resultados erróneos.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Lleve el dispositivo de prueba, el buffer y la muestra a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de la prueba.
2. Retire el dispositivo de prueba de su sobre sellado y utilícelo lo antes posible. Para obtener los mejores resultados, el ensayo debe realizarse en el plazo de una hora.

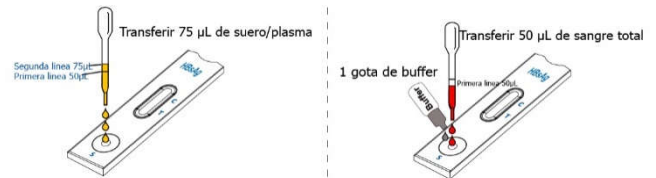
Para muestras de sangre total venosa:

Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 50 µL (hasta la primera línea) de sangre total venosa al pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba, luego agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40 µL) y ponga en marcha el cronómetro.



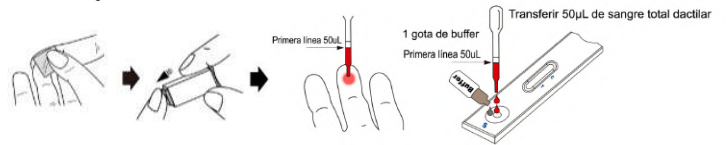
Para muestras de suero o plasma:

Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 75 µL (hasta la segunda línea) de suero o plasma en el pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba y poner en marcha el cronómetro.



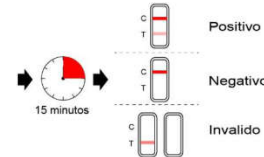
Para muestras de sangre total por punción digital:

- a) Limpie el lugar de la punción.
- b) Retire con cuidado la punta de la lanceta de seguridad. Empuje la lanceta de seguridad con firmeza contra el lugar de la punción hasta que pinche el dedo.
- c) Con la pipeta desechable provista, extraiga la muestra (evitar que la muestra ingrese en la bombilla de succión de la pipeta) y transfiera 50 µL (hasta la primera línea de llenado) de la muestra al pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba, luego agregue 1 gota de buffer e inicie el temporizador.



Evite atrapar burbujas de aire en el pocillo de la muestra (S) y no agregar cualquier solución al área de resultados

3. Espere a que aparezcan las bandas de colores. Lea los resultados a los 15 minutos.



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



POSITIVO: Aparecen dos líneas de colores. Siempre debe aparecer una línea en la región de control (C) y otra línea en la región de prueba (T).



NEGATIVO: Aparecen una línea de color en la región de control (C). No aparece línea de color aparente en la región de prueba (T).



INVÁLIDO: No aparece ninguna línea en la región de control (C). Los resultados de cualquier prueba que no haya producido una línea de control en el tiempo de lectura especificado deben desecharse. Revise el procedimiento de prueba y repita con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

NOTA:

1. La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar según la concentración de analitos presentes en la muestra. Sin embargo, cualquier tono de color en la región de prueba debe ser positivo. Tenga en cuenta que esta es solo una prueba cualitativa y no se puede determinar la concentración de analitos en la muestra.
2. El volumen de muestra insuficiente, el procedimiento operativo incorrecto o las pruebas vencidas son las razones más probables de la falla de la línea de control.

CONTROL DE CALIDAD

- En la prueba se incluye un control de procedimiento interno. Una línea de color que aparece en

la región de control (C) se considera un control de procedimiento positivo interno, lo que confirma la técnica de procedimiento correcto. La línea de control no controla la adición de un volumen adecuado de muestra.

• Los controles de calidad externa no se suministra con este kit. Se recomienda que los controles de calidad sean probados como una buena práctica de laboratorio.

LIMITACIONES

1. La Prueba Rápida Hepatitis B es solo para uso profesional de diagnóstico in vitro y debe usarse para la detección cualitativa de HBsAg en sangre total, suero o plasma humano.
2. La Prueba Rápida Hepatitis B solo indicará la presencia de HBsAg en la muestra y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de infección por VHB.
3. Para confirmar los resultados de la prueba, las muestras deben someterse a más pruebas utilizando diferentes ensayos, como pruebas de diagnóstico rápido, EIA, de acuerdo con un algoritmo de prueba validado de HBsAg.
4. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.
5. Los resultados no deben utilizarse para determinar el serotipo de las infecciones por VHB.
6. Pueden surgir resultados reactivos falsos debido al daño de los componentes de la prueba por el calor o la humedad, cuando se sustituyen otros componentes del kit de prueba (por ejemplo, buffer o gotero) entre los kits de prueba.
7. Las pruebas positivas pueden deberse a una vacunación reciente contra VHB, pero es poco probable que esta positividad persista más allá de los 14 días posteriores a la vacunación⁵.
8. Pueden surgir resultados no reactivos falsos cuando los niveles de HBsAg son muy bajos o muy altos (efecto gancho), cuando se agrega un volumen de muestra insuficiente o cuando los componentes de la prueba se dañan por el calor o la humedad.
9. Se pueden observar resultados no reactivos falsos en personas que están recibiendo una terapia antirretroviral eficaz.

CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN

El primer panel (PEI 6100/09) de referencia de HBsAg de la OMS se probó en la Prueba Rápida Hepatitis B. Según el estudio, los 15 miembros del panel, que representan los subtipos A1, A2, B2, C2, D1, D2, D3, E, F2 y H, se detectan con la Prueba Rápida Hepatitis B.

Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica de la Prueba Rápida Hepatitis B es de 2 UI/ml (0.5 ng/ml) de HBsAg, según PEI 6100/09

Sensibilidad clínica, especificidad y precisión

La Prueba Rápida Hepatitis B se evaluó con un total de 701 muestras. Los resultados de las pruebas se resumen en la siguiente tabla.

Prueba Rápida Hepatitis B vs EIA (Abbott AxSYM)

		EIA		Total
		Positivo	Negativo	
Prueba Rápida Hepatitis B	Positivo	207	2	209
	Negativo	0	492	492
Total		207	494	701

Sensibilidad relativa: >99.9 % (98.2% -100.0 %)*

Especificidad Relativa: 99.6% (98.5 %-99.9%)*

Acuerdo general: 99.7% (99.0%-99.9%)*

*Intervalo de confianza del 95 %

Consistencia de los tipos de muestras:

Se analizaron 50 muestras de sangre total, plasma por pares y sueros seropositivos, 50 muestras de sangre total, plasma por pares y sueros negativos se analizaron con la Prueba Rápida Hepatitis B. Las muestras pareadas de sangre total, plasma y suero mostraron resultados consistentes con la Prueba Rápida Hepatitis B.

EIA	Tipo de muestra	Nº de prueba	Prueba Rápida Hepatitis B	
			Nº de Positivos	Nº de Negativos
Negativo	Sangre total	50	50	0
	Plasma	50	50	0
	Suero	50	50	0
Positivo	Sangre total	50	0	50
	Plasma	50	0	50
	Suero	50	0	50

Precisión

Intraensayo (mismo lote de kit)

La precisión dentro de la serie se ha determinado mediante el uso de 10 réplicas de tres muestras: una negativa, una positiva baja y una positiva alta. Se probó un lote la Prueba Rápida Hepatitis B utilizando las muestras anteriores. Las muestras fueron identificadas correctamente >99% del tiempo.

Interensayo (tres lotes de kits diferentes)

La precisión entre ejecuciones se ha determinado mediante 10 ensayos independientes en las mismas tres muestras: una negativa, una positiva baja y una positiva alta. Se han probado tres lotes de kits diferentes de la Prueba Rápida Hepatitis B utilizando las muestras anteriores. Las muestras fueron identificadas correctamente >99% del tiempo.

GLOSARIO DE SIMBOLOS

REF	Número de catálogo		Intervalo de temperatura
	Consultar las instrucciones de uso	LOT	Número de lote
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro		Fecha de vencimiento
	No reusable		Cantidad suficiente para <n> pruebas

Fabricado por: Azure Biotech Inc. - USA

Para: International Biomedica S.A.C. - PERÚ