

OnSite™ HAV IgM Rapid Test

REF R0090C CE

USO

OnSite HAV IgM Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anti-Virus de Hepatitis A (VHA) IgM en suero, plasma o sangre total humanos. Está concebida como prueba para pesquijaje por profesionales y como apoyo en el diagnóstico de la infección por VHA.

La interpretación de los resultados de este ensayo dependerá de las evidencias clínicas y del criterio del personal de salud. Debe considerarse el uso de métodos de diagnóstico alternativos para confirmar los resultados obtenidos con esta prueba.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El VHA, un virus con cadena de RNA positiva, es miembro de la familia *Picornaviridae*¹. Su transmisión ocurre de persona a persona fundamentalmente por la vía fecal-oral. Aunque la Hepatitis A no es generalmente una enfermedad de transmisión sexual, la incidencia de infección es más alta entre los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres, como resultado del contacto oral-anal^{2,3}.

La presencia de anticuerpos IgM anti-VHA en la sangre sugiere la existencia de una infección aguda o reciente con HAV^{4,5}. Los títulos de IgM anti-VHA aumentan rápidamente durante 4 – 6 semanas tras la infección, y luego disminuye hasta niveles indetectables en 3 – 6 meses para la mayoría de los pacientes⁷.

OnSite HAV IgM Rapid Test es un inmunoensayo de flujo lateral usado en la detección cualitativa de anti-VHA IgM en suero, plasma o sangre total. OnSite HAV IgM Rapid Test puede ser ejecutada en 15 minutos por parte de personal con calificación básica y sin necesidad de equipamiento de laboratorio.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

OnSite HAV IgM Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El casete consiste en: 1) una almohadilla color rojo que contiene antígenos recombinantes de VHA conjugados a oro coloidal (conjugados de VHA) y un anticuerpo control conjugado a oro, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una línea de ensayo (línea T) y una línea control (línea C). La línea T está pre-cubierta con anti-cuerpos ratón anti-humano y la línea C está pre-cubierta con un anticuerpo control.

Cuando en el Pozo de muestra y en el Pozo de diluyente del dispositivo se dispensan la cantidad adecuada de muestra y diluyente respectivamente, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si la muestra contiene anti-VHA IgM, esta se unirá a los conjugados VHA. El inmunocomplejo es entonces capturado en la membrana por los anticuerpos anti-IgM humana pre-cubiertos y aparece la línea T, de color rojo, indicadora de un resultado positivo a IgM específica a VHA. La ausencia de la línea T sugiere un resultado negativo a IgM específica a VHA.

La prueba contiene un control interno (línea C) que, independientemente del color de la línea de ensayo, debe desarrollar un color rojo. Si la línea C no aparece, el resultado no es válido y la muestra debe ser evaluada con otro dispositivo.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

1. Bolsas de aluminio selladas individualmente que contienen:
 - a. Un dispositivo de casete
 - b. Un tubo capilar de 5 µL
 - c. Un desecante
2. Diluyente de muestra (REF SB-R0090, 5 mL/botella)
3. Un inserto (instrucciones de uso)

MATERIALES QUE PUEDEN SER REQUERIDOS PERO NO SON SUMINISTRADOS

1. Control Positivo
2. Control Negativo

MATERIALES REQUERIDOS Y NO SUMINISTRADOS

1. Reloj o cronómetro
2. Dispositivo de punción para pruebas de sangre completa

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para Uso De Diagnóstico In Vitro

1. Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se siguen las instrucciones se pueden generar resultados erróneos.
2. No abra la bolsa sellada hasta que no se vaya a realizar la prueba.
3. No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
4. Atempere los reactivos de 15 a 30°C antes de usarlos.
5. No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
6. No utilice sangre hemolizada para la prueba.
7. Usar ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave bien sus manos después de realizar la prueba.
8. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, el VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.
9. No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
10. Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
11. Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma que manipula las muestras de los pacientes.
12. Los resultados de las pruebas deben ser leídos entre 15-20 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Leer los resultados fuera de los 15-20 minutos puede generar resultados erróneos.
13. No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, p.o. con ventiladores o aire acondicionado fuerte.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. Los dispositivos sellados que no se utilicen se deben almacenar entre 2-30°C. Si el dispositivo se almacena entre 2°C y 8°C, asegúrese de que sea traído a 15-30°C antes de abrir su bolsa. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. No congele el dispositivo ni lo exponga a temperaturas superiores a los 30°C.

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúelos usando procedimientos estándares de bioseguridad.

Plasma/Suero

- Paso 1: Recolecte la muestra por punción de la vena en un tubo con anticoagulante que contenga EDTA, citrato o heparina respectivamente para el plasma o en un tubo de colección que no contenga anticoagulantes para el suero.
- Paso 2: Para preparar la muestra de plasma, centrifugue las muestras recolectadas y cuidadosamente transfiera el plasma en un nuevo tubo previamente etiquetado.
- Paso 3: Para preparar la muestra de suero, deje la sangre coagular, después centrifugue las muestras recolectadas y cuidadosamente transfiera el suero en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Evalúe las muestras lo más pronto posible después de su colecta. Almacene las muestras de 2-8°C, si no van a ser evaluadas inmediatamente. Las muestras pueden ser almacenadas a 2-8°C por hasta 5 días. Las muestras deben congelarse a -20°C si se requieren períodos de almacenamientos más prolongados.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación. Antes del ensayo, lleve lentamente las muestras congeladas a temperatura ambiente y mézclelas con suavidad. Las muestras que contengan partículas visibles deben ser clarificadas por centrifugación antes de la prueba.

No utilice muestras que muestren altos niveles de lipemia, hemólisis o turbidez para evitar interferencias en los resultados.

Sangre Total

- Paso 1: Las muestras de sangre total pueden ser obtenidas por punción de la punta del dedo por extracción de la vena. Recolecte la muestra de sangre en un tubo que contenga EDTA, citrato o heparina. No use sangre hemolizada.

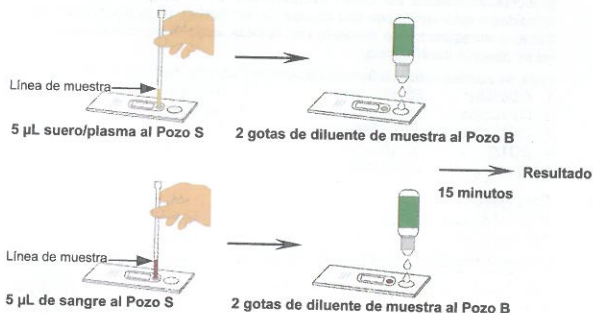
Las muestras de sangre total deben ser almacenadas en refrigeración (2-8°C) si no van a ser evaluadas inmediatamente, pero deben usarse dentro de las 24 horas desde su recolección.

PROCEDIMIENTO

- Paso 1: Si las muestras o los componentes de la prueba han sido refrigerados o congelados, lívelos a temperatura ambiente y homogenícelos bien antes de ejecutar el ensayo.
- Paso 2: Cuando esté listo para realizar la prueba, abra la bolsa y ponga el dispositivo en una superficie plana y limpia.
- Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación de la muestra.
- Paso 4: Tome la muestra con el capilar hasta la línea de muestra como se observa en la imagen más abajo. El volumen es de 5 µL aproximadamente. **Para obtener una mayor precisión, transfiera la muestra usando una pipeta capaz de dispensar volúmenes de 5 µL.**

Sosteniendo el capilar verticalmente, dispense todo el volumen en el pozo de la muestra (Pozo S), cuidando que no se formen burbujas de aire.

Inmediatamente después añada 2 gotas (cerca de 60-80 µL) de diluyente de la muestra (Pozo B) con la botella en posición vertical.



- Paso 5: Comience a medir el tiempo.

- Paso 6: Lea los resultados a los 15-20 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 minuto. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 20 minutos. **Sin embargo, cualquier interpretación de los resultados fuera de los 15-20 minutos debe ser considerada inválida y la prueba debe repetirse. Después de interpretar los resultados, deseche el dispositivo según las normas locales.**

CONTROL DE CALIDAD

1. **Control Interno:** Este ensayo contiene un control interno, la línea C. La línea C aparece tras añadir la muestra. Si la línea C no desarrolla color, revise el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo dispositivo.
2. **Control Externo:** Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar un adecuado desempeño de la prueba particularmente bajo las siguientes circunstancias:
 - a. Cuando un Nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.
 - b. Cuando se inicia un nuevo kit.
 - c. Un nuevo envío de kits es utilizado.
 - d. Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2-30°C.
 - e. La temperatura del sitio de procesamiento está por fuera de 15-30°C.
 - f. Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.
 - g. Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. **RESULTADO NEGATIVO:** Si solo aparece la línea C, la prueba indica que no se detectan en la muestra anticuerpos anti-VHA IgM. El resultado es negativo.



2. **RESULTADO POSITIVO:** Si aparecen las líneas C y T, la prueba indica la presencia de anticuerpos anti-VHA IgM en la muestra. El resultado es positivo.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmados con métodos alternativos y en base a la evidencia clínica antes de emitir un diagnóstico. Los niveles de Factor Reumatoideo de ≥ 1.000 UI/mL pueden resultar en resultados erróneos. Vea la sección Limitaciones del ensayo, acápite 5.

3. **RESULTADO NO VÁLIDO:** Si la línea C no aparece, el ensayo no es válido independientemente de la presencia o no de la línea T como se indica más abajo. Repita el ensayo con un nuevo dispositivo.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

1. Desempeño clínico

Se evaluaron 1060 muestras de sujetos susceptibles usando OnSite HAV IgM Rapid Test y un ELISA comercial en Europa y otras regiones. La comparación de todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla:

HAV IgM ELISA	OnSite HAV IgM Rapid Test		Total
	Positivos	Negativos	
Positivos	87	9	96
Negativos	5	205	210
Total	92	214	306

Sensibilidad Relativa: 90.6%, Especificidad Relativa: 97.6%, Concordancia: 95.4%

2. Reactividad Cruzada

No se observaron resultados positivos falsos de anti-VHA IgM en 3-10 muestras positivas de los siguientes estados de enfermedad.

Dengue	VHB	VHC	VHE	VIH
Malaria	TB	T. palladium	Tifoidea	ANA
FR (hasta 1,000 IU/mL)				

3. Interferencia

Se estudió la interferencia en el desempeño de OnSite HAV IgM Rapid Test por sustancias comúnmente encontradas con libre adquisición y otros medicamentos bajo prescripción médica así como componentes de la sangre. Estas sustancias fueron añadidas a estándares con tres niveles de reactividad: negativo, positivo débil y positivo fuerte. Los resultados se presentan en la tabla abajo. A las concentraciones ensayadas no se observó interferencia.

Lista de químicos de interferencia potencial y concentraciones analizadas:

1. Albúmina	60 g/L	6. Hemoglobina	2 g/L
2. Bilirrubina	20 mg/dL	7. Heparina	3,000 U/L
3. Creatinina	442 μ mol/L	8. Ácido Salicílico	4.34 mmol/L
4. EDTA	3.4 μ mol/L	9. Citrato de sodio	3.0%
5. Glucosa	55 mmol/L	10. IgG Humano	1,000 mg/dL

4. Panel BBI

El panel de seroconversión de HAV PHT903 (BBI) se evaluó con OnSite HAV IgM Rapid Test. Los resultados se presentan en la tabla de abajo.

Panel BBI PHT903	Abbott AxSYM HAV IgM S/co*	OnSite HAV IgM Rapid Test
01	0.1	Negativa
02	0.1	Negativa
03	4.8	Positiva
04	4.8	Positiva
05	4.8	Positiva
06	4.1	Positiva
07	2.0	Positiva
08	1.4	Positiva
09	1.2	Positiva
10	1.3	Positiva

*Proporción S/co ≥ 1.0 se considera positivo

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Las instrucciones dadas en las secciones "Procedimiento" e "Interpretación de los Resultados" deben seguirse cuidadosamente al evaluar la presencia de anti-VHA IgM en suero, plasma o sangre total para evitar obtener resultados erróneos.
- OnSite HAV IgM Rapid Test está limitada a la detección cualitativa de anti-VHA IgM en suero, plasma o sangre total humanos. La intensidad del color obtenido en las líneas de ensayo no tiene correlación lineal con la concentración de anticuerpos en la muestra.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o infección con VHA. Un resultado negativo puede obtenerse si la cantidad de anti-VHA IgM presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo o si estos anticuerpos no están presentes durante la etapa de la enfermedad en que la muestra es colectada.
- La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten y el resultado de OnSite HAV IgM Rapid Test es negativo, es recomendado tomar otra muestra días después o evaluar al paciente usando un método alternativo.

- Cantidades inusualmente altas de factor reumatoideo en la muestra ($\geq 1,000$ UI/mL) pueden afectar los resultados.
- Los resultados obtenidos con este ensayo deben ser interpretados en conjunto con otros procedimientos diagnóstico y los signos clínicos.

REFERENCIAS

- Minor P, Francki RIB, Fauquet CM, et al. Classification and nomenclature of viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses 1991. 320-326.
- Keeffe EB. Clinical approach to viral hepatitis in homosexual men. Med Clin North Am 1986. 70(3):567-586.
- Ballesteros J, Dal-Re R, Gonzalez A, et al. Are homosexual males a risk group for hepatitis A infection in intermediate endemicity areas? Epidemiol Infect 1996. 117(1):145-148.
- Bradley DW, Maynard JE, Hindman SH, et al. Serodiagnosis of viral hepatitis A: detection of acute-phase immunoglobulin M anti-hepatitis A virus by radioimmunoassay. J Clin Microbiol 1977. 5(5):521-530.
- Decker RH, Kosakowski SM, Vanderbilt AS, et al. (1981). Diagnosis of acute hepatitis A by HAVAB-M, a direct radioimmunoassay for IgM anti-HAV. Am J Clin Path 1981. 76(2):140-147.
- Locarnini SA, Ferris AA, Lehmann NI, et al. The antibody response following hepatitis A infection. Intervirology 1977. 8(5):309-318.
- Skinhøj P, Mikkelsen F, & Hollinger FB. Hepatitis A in Greenland: importance of specific antibody testing in epidemiologic surveillance. Am J Epidemiol 1997. 105(2):140-147.

Índice de símbolos CE

	Consulte las instrucciones de uso		Para uso diagnóstico in vitro únicamente		Utilice por
	Catálogo número		Número de Lote		Pruebas por kit
	Almacenar de 2 a 30°C		Representante Autorizado		No reutilizar
	Fabricante		Fecha de fabricación		

CTK Biotech, Inc.

13855 Stowe Drive
Poway, CA 92064, USA
Tel: 858-457-8698
Fax: 858-535-1739
E-mail: info@ctkbiotech.com

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

PI-R0090C-CIA-SP-DIP Rev. HP1.0
Fecha de publicación: 2019-07-31
Versión en español

Solo para exportación. No para re-venta en los E.U.A.