

OnSite™ HAV IgG/IgM Rapid Test

REF R0092C CE

USO

OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa y diferenciación de anticuerpos (IgG e IgM) anti-virus de hepatitis A (VHA) en suero, plasma o sangre total humanos. Este dispositivo está diseñado para ser usado como instrumento de pesquijaje y para el apoyo al diagnóstico de infección por VHA activa y/o pasada.

Cualquier uso o interpretación del resultado de la prueba preliminar también deben depender de otros resultados clínicos y el criterio profesional de los proveedores de atención de la salud. Método de ensayo alternativo (s) debe ser considerado para confirmar el resultado de la prueba obtenido por este dispositivo.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

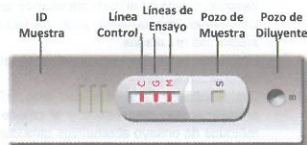
El VHA, un virus con cadena de RNA positiva, es miembro de la familia *Picornaviridae*¹. Es altamente contagioso y su transmisión ocurre de persona a persona fundamentalmente por la vía fecal-oral ya sea por el contacto interpersonal o por el consumo de comida o agua contaminadas. Aunque la Hepatitis A no es generalmente una enfermedad de transmisión sexual, la incidencia de infección es más alta entre 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 VHA^{4,5}. Los títulos de IgM anti-VHA aumentan rápidamente durante 4 – 6 semanas tras la infección, y luego disminuyen hasta niveles indetectables en 3 – 6 meses para la mayoría de los pacientes⁷. La IgG anti-VHA puede ser detectada al comenzar los síntomas y permanece elevada durante toda la vida⁸. Los niveles de IgG anti-VHA entre 20-33 mUI/mL sugieren que se ha establecido una inmunidad protectora⁹, sin embargo, estos niveles no necesariamente aseguran la protección de una futura infección por VHA. Un paciente sin niveles protectores de IgG (< 20-33 mUI/mL) se considera en riesgo de volver a adquirir la infección.

OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test es un inmunoensayo de flujo lateral usado en la detección cualitativa y diferenciación de IgG e IgM anti-VHA en suero, plasma o sangre total. 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 IgG/IgM Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La tira reactiva en el casete consiste en: 1) una almohadilla color rojo tinto que contiene antígenos recombinantes de VHA conjugados a oro coloidal (conjugados de VHA) y un anticuerpo control conjugado a oro coloidal, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de ensayo (Líneas G y M) y una línea control (línea C). La línea G está pre-cubierta con anticuerpos murinos anti IgG humana para la detección de IgG anti-VHA. La línea M está pre-cubierta con anticuerpos murinos anti IgM humana para la detección de IgM anti-VHA. 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 IgG anti-VHA, esta se unirá a los conjugados VHA. El inmunocomplejo es entonces capturado en la membrana por los anticuerpos anti-IgG humana pre-cubiertos y aparece la línea G, de color rojo tinto, indicadora de un resultado positivo a IgG específica a VHA. Si la muestra contiene IgM anti-VHA, 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 M, de color rojo tinto, indicadora de un resultado positivo a IgM específica a VHA.

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

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

- Bolsas de aluminio selladas individualmente que contienen:
 - Un dispositivo o casete
 - Un tubo capilar de 5 µL
 - Un desecante
- Diluyente de muestra (REF SB-R0092, 5 mL/botella)
- Un inserto (instrucciones de uso)

MATERIALES QUE PUEDEN SER REQUERIDOS PERO NO SON SUMINISTRADOS

- Control Positivo
- Control Negativo

MATERIALES REQUERIDOS Y NO SUMINISTRADOS

- Reloj o cronómetro
- Dispositivo de punción para pruebas de sangre completa

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso Diagnóstico In Vitro

- Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se siguen las instrucciones se pueden generar resultados erróneos.
- No abra la bolsa sellada hasta que no se vaya a realizar la prueba.
- No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
- Atemperare los reactivos de 15 a 30°C antes de usarlos.
- No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
- No utilice sangre hemolizada para la prueba.
- 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.
- 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.
- No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
- Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
- Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma que manipula las muestras de los pacientes.
- Los resultados del ensayo deben leerse a los 15-20 minutos después de adicionar la muestra o el control a la tira. Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de los 15-20 minutos debe ser considerada no válida y la prueba debe repetirse.
- No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, p.ej. 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 o 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, llévelos 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 5µL 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.

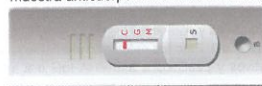
Paso 6: Los resultados pueden leerse entre los 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 minutos. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 20 minutos. **Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de la ventana de 15-20 minutos debe ser considerada no válida y el ensayo debe ser repetido. Tras interpretar los resultados deseche los dispositivos usados según las regulaciones locales.**

CONTROL DE CALIDAD

- 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.
- 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:
 - El dispositivo es usado por un nuevo operario.
 - Se está usando un nuevo lote de reactivos.
 - Se está usando un nuevo envío de reactivos.
 - La temperatura de almacenamiento ha estado fuera de 2-30°C.
 - La temperatura del área de ensayo está fuera de 15-30°C.
 - Verificar frecuencias anormales de resultados positivos o negativos.
 - Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

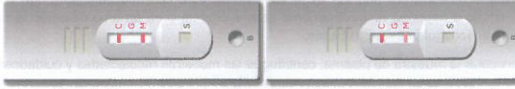


2. RESULTADO POSITIVO:

2.1 Si además de la línea C, solo aparece la línea G, la prueba indica la presencia de anti-VHA IgG. El resultado es positivo o reactivo a anti-VHA IgG, sugiriendo infección pasada.



2.2 Si además de la línea C, solo aparece la línea M, la prueba indica la presencia de anti-VHA IgM. El resultado es positivo o reactivo a anti-VHA IgM, sugiriendo infección activa.

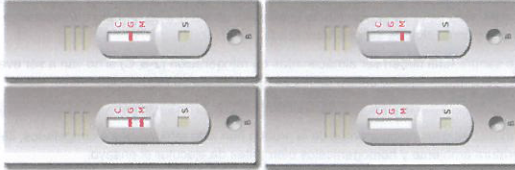


2.3 Si además de la línea C, aparecen ambas líneas de ensayo (G y M), la prueba indica la presencia de anti-VHA IgG e IgM. El resultado es positivo o reactivo a anti-VHA IgG e IgM, sugiriendo infección activa.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos alternativos y en base a la evidencia clínica antes de emitir un diagnóstico. Los niveles de Factor Reumatoideo de $\geq 1,000$ UI/mL pueden resultar en resultados erróneos. Vea la sección Limitaciones del ensayo, acápite 6.

3. **RESULTADO NO VÁLIDO:** Si la línea C no aparece, el ensayo no es válido independientemente de la presencia o no de las líneas de ensayo (G y/o M) como se indica más abajo. Repita el ensayo con un nuevo dispositivo.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

1. Sensibilidad analítica de la detección de IgG

Se reconstituyó en agua el estándar internacional secundario de WHO para VHA (NIBSC 97/646) a 98 UI/mL y se diluyó con suero negativo a concentraciones de 40, 50, 60, 70, 80, 90, y 100 mUI/mL. Se evaluaron 20 réplicas con OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test. El límite de detección o sensibilidad analítica, definido como el nivel de detección del 95% fue de 70 mUI/mL.

HAV IgG (mUI/mL)	40	50	60	70	80	90	100
Positivos	0	2	7	19	20	20	20
Negativos	20	18	13	1	0	0	0

N=20, sensibilidad analítica a 70 mUI/mL = 19/20 x 100% = 95%

2. Exactitud de la detección de IgG

Se colectó un total 200 muestras clínicas y se evaluaron con OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test y con un kit de prueba comercial de referencia. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Referencia	OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	125	0	125
Negativo	4	71	75
Total	129	71	200

Sensibilidad Relativa: 100% (95% CI: 97.1 – 100.0%)

Especificidad Relativa: 98.0% (95% CI: 95.0 – 99.5%)

Concordancia: 98.3% (95% CI: 96.7 – 99.3%)

3. Exactitud de la detección de IgM

Se colectó un total de 306 muestras y se evaluaron con OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test y con un ELISA comercial para anti-VHA IgM. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Referencia	OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	91	5	96
Negativo	7	203	210
Total	98	208	306

Sensibilidad Relativa: 94.8% (95% CI: 88.3 – 98.3%)

Especificidad Relativa: 96.7% (95% CI: 93.3 – 98.6%)

Concordancia: 96.1% (95% CI: 93.3 – 98.0%)

4. Desempeño usando el panel de seroconversión de VHA (BBI)

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

Tipo	OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test		Concordancia
	Número		
IgG VHA Positivo	8		8 (100%)
IgG VHA Negativo	2		2 (100%)
IgM VHA Positivo	8		8 (100%)
IgM VHA Negativo	2		2 (100%)

5. Tasa de Positivos en muestras clínicas al azar

Se evaluaron 990 muestras clínicas al azar usando OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test. La tasa de resultados positivos fue de 70.4% para anti-VHA IgG y 4.6% para anti-VHA IgM.

6. Reactividad cruzada

No se observaron resultados falsos positivos para anti-VHA IgG e IgM al evaluar 4-10 muestras de cada una de las siguientes enfermedades o condiciones especiales:

HVB	HCV	HEV	VIH	hCG
Dengue	<i>H. pylori</i>	Malaria	TB	<i>T. pallidum</i>
Fiebre Tifoidea	ANA	HAMA	FR (hasta 1,000 UI/mL)	

7. Interferencia

Sustancias comunes (como los analgésicos, antipiréticos y componentes de la sangre) pudieran afectar el rendimiento de OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test. Esto fue estudiado mediante la adición de estas sustancias en controles estándar negativos y positivos a anti-VHA IgG o a IgM. Los

resultados demuestran que estas sustancias no afectan el desempeño de OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test a las concentraciones ensayadas.

Lista de sustancias potencialmente interferentes y concentraciones ensayadas:

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	4.24 mmol/L
4. EDTA	3.4 μ mol/L	9. Citrato de Sodio	3.4%
5. Glucosa	55 mmol/L		

VALORES ESPERADOS

En el mundo se producen aproximadamente 1.4 millones de casos de hepatitis A anualmente¹⁰. La tasa de incidencia está relacionada con los indicadores socioeconómicos, el acceso a agua potable segura y la vacunación. En países poco desarrollados con pocas condiciones sanitarias, el VHA es endémico y la mayor parte de la población se infecta durante los primeros años de la niñez. La seroprevalencia de anti-VHA es más alta en algunas áreas de África, Asia y las Américas del Sur y Central, donde pueden alcanzar hasta el 100% de los niños¹⁰. En la mayor parte de las regiones desarrolladas como América del Norte, Oeste de Europa, Australia y Japón, la prevalencia de anti-VHA puede ser tan baja como el 10%¹⁰.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Las instrucciones dadas en las secciones "Procedimiento" e "Interpretación de los Resultados" deben seguirse cuidadosamente al evaluar la presencia de anticuerpos anti-VHA en suero, plasma o sangre total para evitar obtener resultados erróneos.
- OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test está limitada a la detección cualitativa de anticuerpos anti-VHA 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 o no-reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección con VHA. Un resultado negativo puede obtenerse si la cantidad de anticuerpos anti-VHA presentes 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.
- Un resultado negativo o no-reactivo no excluye la existencia de una infección aguda con VHA. Las muestras colectadas en estadios muy tempranos de la enfermedad pueden no contener niveles detectables de IgM.
- La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten y el resultado de OnSite HAV IgG/IgM Rapid Test es negativo o no-reactivo, 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.
- La presencia de anticuerpos anti-VHA IgG se puede observar debido a infecciones anteriores y/o vacunación¹¹.
- Los resultados obtenidos con este ensayo deben ser interpretados en conjunto con otros procedimientos diagnóstico y el criterio del personal de salud. Debe considerarse el uso de métodos de ensayo alternativos para confirmar los resultados obtenidos con este ensayo.

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.
- World Health Organization. Hepatitis A. 2000.
- Fiore AE, Wasley A, Bell BP. Prevention of Hepatitis A Through Active or Passive Immunization. CDC 2006; 55(RR07):1-23.
- Jacobsen KH, Koopman JS. Declining hepatitis A seroprevalence: a global review and analysis. Epidemiol Infect 2004; 132:1005-22.
- Hofmeister MG, et al. Manual for the Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases. Chapter 3: Hepatitis A. CDC 2018. 3.1/8:1-11.

Índice de Símbolos CE

	Consulte las instrucciones de uso		Solo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		Fecha de vencimiento
	Número de catálogo		Número de lote		Ensayos por kit
	Almacenar entre 2-30°C		Representante autorizado		No reutilizar
	Fabricante		Fecha de manufactura		

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-R0092C-CIA-SP-DIP Rev. AP1.0
 Fecha de publicación: 2019-07-31
 Versión en español

Solo para exportación. No para ser comercializado en los E.U.A.