

Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre Total) marca ECOTEST es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral en fase sólida de diagnóstico in vitro, para la detección cualitativa del antígeno de superficie de Hepatitis B (HBsAg) en muestras de Suero, Plasma o Sangre Total humano. Este kit puede ser usado como una ayuda en el diagnóstico de la infección viral por hepatitis B. Un resultado positivo debe ser confirmado por otro(s) ensayo(s) suplementario(s)

INTRODUCCION

La hepatitis B es una infección hepática potencialmente mortal causada por el virus de la hepatitis B. Es un importante problema de salud global. Puede causar infección crónica y poner a las personas en alto riesgo de muerte por cirrosis y cáncer de hígado. Alrededor de un tercio de la población mundial ha sido infectada en algún momento de sus vidas, incluyendo 343 millones que tienen infecciones crónicas^{1, 2, 3}. Muchas personas no tienen síntomas durante la infección inicial¹. Algunos desarrollan rápido 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) basados en epítomos antigénicos presentados en sus proteínas de envoltura, 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 la infección actual de hepatitis B. Las personas que permanecen HBsAg positivas durante al menos seis meses se consideran portadores de hepatitis B⁴. Los portadores del virus pueden tener hepatitis B crónica, que se reflejaría en los niveles elevados de alanina aminotransferasa sérica (ALT) y la inflamación del hígado, si están en la fase de eliminación inmune de la infección crónica. No es posible, por razones clínicas, 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 Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que todas las donaciones de sangre se analicen para detectar hepatitis B para garantizar la seguridad de la sangre y evitar la transmisión accidental a las personas que reciben productos sanguíneos.

PRINCIPIO

Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test detecta el HBsAg a través de la interpretación visual del desarrollo del color en la tira interna del dispositivo de prueba (Tipo cassette). Los anticuerpos anti-HBsAg se inmovilizan en la región de prueba de la membrana de nitrocelulosa. Durante la prueba, la muestra se agrega al pocillo de la muestra, comenzando así la migración por acción capilar. La muestra pasa la almohadilla conjugada que contiene anticuerpos monoclonales 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 presente en las bandas pre-recubiertas. La mezcla antígeno/anticuerpo-conjugado migra luego a través de la membrana de nitrocelulosa y se une a los antígenos presentes en la línea de prueba, y se formará una unión de color en la región de prueba (T). 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 (C). La apariencia de esta banda de color en la región de control sirve como control de procedimiento, lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y se ha producido la absorción de la membrana de nitrocelulosa.

MATERIALES
Materiales Proveídos

- | | |
|--|---|
| 1.- Sobre de aluminio que contiene: | 2.- 01 Buffer (5 ml); presentación x 25,30 y 40 |
| a) Dispositivo de prueba (tipo cassette) | 02 Buffer (5 ml); presentación x 50 |
| b) Pipeta (gotero) graduada | 03 Buffer (5 ml); presentación x 100 |
| c) Desecante | 3.- Inserto (manual de instrucciones) |

Materiales Requeridos pero No proveídos

- Reloj para el control del tiempo
- Centrífuga

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

- Lea estas instrucciones cuidadosamente antes de realizar la prueba.
- No use la prueba después de la fecha de vencimiento.
- No utilice la prueba si el sobre de aluminio está dañado. No reutilice las pruebas.
- Aplice precauciones estándar de bioseguridad al manipular y desechar materiales potencialmente infecciosos. Maneje todas las muestras como potencialmente infecciosas.
- Use ropa protectora como guantes, batas de laboratorio y protección para los ojos cuando se analizan las muestras.
- El dispositivo de prueba y los accesorios deben desecharse en un contenedor de residuos de riesgo biológico adecuado después de la prueba.

- No coma, beba, ni fume en el área donde se manipulan las muestras y los kits.
- Evite las salpicaduras y limpie los derrames inmediatamente con el desinfectante adecuado.
- El buffer contiene azida sódica al 0,02% como conservante que puede ser tóxico si se ingiere. Cuando se desecha a través de un fregadero, enjuague con grandes cantidades de agua.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente colector de muestra para cada muestra obtenida.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados.
- No usar ninguna otra muestra más que los especificados. Para sangre total venosa y plasma; pueden usarse como anticoagulantes EDTA, citrato de sodio, heparina de sodio u oxalato de potasio.
- Los materiales de prueba usados deben desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El kit debe almacenarse entre 2-30 °C hasta la fecha de caducidad impresa en el sobre de aluminio sellado.
- La prueba debe permanecer en el sobre sellado hasta su uso.
- No congelar el kit.
- Proteja el kit de la humedad.
- Se debe tener cuidado en proteger los componentes del kit de la contaminación. No utilice la prueba si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica de equipos, dispensadores, contenedores o reactivos puede conducir a resultados erróneos.

RECOLECCION, PREPARACION Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA

- Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre Total) marca ECOTEST está diseñado para su uso únicamente con muestras de Suero, Plasma o Sangre Total humano.
- Recolecte las muestras de acuerdo con el procedimiento de flebotomía seguro.
- Solo se recomienda muestras claras, no hemolizadas para su uso con esta prueba. El suero o el plasma deben separarse lo más pronto posible para evitar la hemólisis.
- Realice las pruebas inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente por periodos prolongados. Las muestras de Suero y Plasma pueden almacenarse entre 2-8 °C por hasta 7 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 °C. La sangre total recolectada mediante venopunción debe almacenarse entre 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 realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse por completo y mezclarse bien antes de la prueba. Se deben evitar múltiples ciclos de congelación/ descongelación de las muestras.
- Si las muestras deben transportarse, empaquételas de acuerdo con todas las reglamentaciones aplicables para el transporte de agentes etiológicos.
- Los sueros ictericos, lipémicos, hemolizados, tratados térmicamente y contaminados pueden causar resultados erróneos

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Llevar el dispositivo de prueba, buffer y muestra a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

- Remover el dispositivo de prueba del sobre sellado y usar lo antes posible. Para un mejor resultado, el ensayo debe realizarlo dentro de una hora después de haber obtenido la muestra.
- Colocar el dispositivo de prueba en una superficie limpia y nivelada. Etiquete la muestra con la identificación del paciente.

Para muestras de **sangre venosa total**:

Mantener la Pipeta (gotero) graduada verticalmente y transferir 50 µL (Hasta la primera línea) de sangre total en el pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba, luego **agregar 1 gota de buffer** (aproximadamente 40 µL) e inicie el temporizador.

Para muestras de **sangre total dactilar**

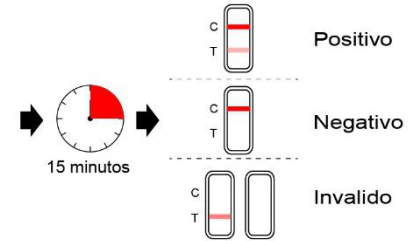
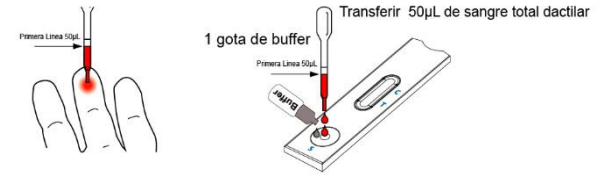
Mantener la Pipeta (gotero) graduada verticalmente y transferir 50 µL (Hasta la primera línea) de sangre total en el pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba, luego **agregar 1 gota de buffer** (aproximadamente 40 µL) e inicie el temporizador.

Para muestras de **suero o plasma**:

Mantener la Pipeta (gotero) graduada verticalmente y transferir 75 µL (Hasta la segunda línea) de suero/plasma en el pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba, e inicie el temporizador.

Evite que queden burbujas de aire en el pocillo de muestra (S), y no agregar ninguna solución en el área de resultados

Esperar a que aparezca la(s) banda(s) de color. **Leer el resultado a los 15 minutos.**


INTERPRETACION DE RESULTADOS


POSITIVO: Aparecen dos líneas de colores en la membrana. Una línea siempre debe aparecer en la región de control (C) y otra banda de color se presenta en la región de la prueba (T).

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

INVALIDO: 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 descartarse. Revise el procedimiento de prueba y repita con una nueva prueba. Si el problema persiste, suspenda el uso del kit inmediatamente comuníquese con su distribuidor local.

NOTA:

- La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración de los analitos presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de prueba debe considerarse positivo. Tenga en cuenta que esta es solamente una prueba cualitativa, y no se puede determinar la concentración de analitos en la muestra.
- El volumen de muestra insuficiente, procedimiento operativo incorrecto o pruebas expiradas son las razones más probables para la falla de la línea de control.

CONTROL DE CALIDAD

- Los controles de procedimientos internos están incluidos en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) se considera un control de procedimiento interno positivo, lo que confirma el volumen suficiente de la muestra y la técnica de procedimiento correcta. La línea de control no controla la adición de un volumen adecuado de muestra.
- Los controles externos de calidad no se suministran con este kit. Se recomienda que los controles de calidad se prueben como una buena práctica de laboratorio.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre Total) marca ECOTEST es solo para uso profesional de diagnóstico in vitro y debe utilizarse para la detección cualitativa de HBsAg en Suero, Plasma o Sangre Total humano.
- Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre Total) marca ECOTEST solo indicará la presencia de HBsAg en la muestra y no se debe utilizar como el único criterio para el diagnóstico de la infección viral de la hepatitis B.
- Para confirmar los resultados de la prueba, las muestras deben someterse a pruebas adicionales

utilizandodiferentes ensayos, como pruebas de diagnóstico rápido enzimoimmunoanálisis (EIA), de acuerdo con unalgoritmo de prueba de HBsAg validado.

- Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, un diagnóstico confirmatorio solo debe realizarlo un médico después de que se hayan evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
- Los resultados no deben usarse para determinar el serotipo de las infecciones por VHB.
- Pueden surgir resultados reactivos falsos debido a daños en los componentes de prueba por calor o humedad, cuando otros componentes del kit de prueba (por ejemplo, buffer o goteros) se sustituyen entre los kits de prueba.
- Las pruebas positivas pueden deberse a una vacunación reciente contra el VHB, pero es poco probable que esta positividad persista más de 14 días después de la vacunación.
- Pueden surgir resultados falsos no reactivos cuando los niveles de HBsAg son muy bajos o muy altos (efecto gancho), volumen de muestra insuficiente agregado o daño a los componentes de prueba por calor o humedad.
- Se pueden observar resultados falsos no reactivos en individuos que reciben terapia antirretroviral efectiva.

CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACION

Detección de genotipos y serotipos

El primer panel de referencia de HBsAg de la OMS (PEI 6100/09) se probó en Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre Total). Según el estudio, los 15 miembros del panel, que representan los subtipos A1, A2, B2, C2, D1, D2, D3, E, F2 y H, se detectaron con Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test.

Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica de Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma /Sangre Total) es de 0,5 ng/ml de HBsAg o 2 UI/ml según el panel de referencia de la OMS sobre HBsAg (PEI 6100/09).

Sensibilidad clínica, especificidad y precisión

Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre Total) fue evaluado con un total de 2956 muestras. Los resultados de las pruebas se resumieron en la siguiente tabla.

Tabla: Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test vs. EIA (Abbott AxSYM)

	EIA		TOTAL	
	Positivo	Negativo		
Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test	Positivo	821	0	821
	Negativo	0	2135	2135
Total	821	2135	2956	

Sensibilidad Relativa: 100.0% (99.5%-100.0%)*

Especificidad Relativa: 100.0% (99.8%-100.0%)*

Concordancia Total: 100.0% (99.9%-100.0%)*

*95% Intervalo de confianza

Consistencia de los tipos de muestras

Se analizaron 50 muestras seropositivas de Suero, Plasma y Sangre Total por duplicado, 50 muestras negativas de Suero, Plasma y Sangre Total, con Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre Total). Las muestras de Suero, Plasma y Sangre Total por duplicado mostraron resultados consistentes con Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre total)

EIA	Tipo de muestra	No. de Pruebas	Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test	
			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

Intra – Ensayo (kit de igual lote)

La precisión dentro del ensayo se ha determinado mediante el uso de 10 réplicas de tres muestras: un negativo, un positivo bajo y un positivo alto. Un lote de kit de hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero /Plasma/Sangre Total) se ha ensayado utilizando las muestras anteriores. Las muestras se identificaron correctamente >99% del tiempo.

Inter – Ensayo (tres kits de diferentes lotes)

La precisión entre corridas ha sido determinada por 10 ensayos independientes en las mismas tres muestras: un negativo, un positivo bajo y un positivo alto. Se han probado tres lotes diferentes de Hepatitis B Surface Antigens HBsAg Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre Total) utilizando las muestras anteriores. Las muestras se identificaron correctamente > 99% del tiempo.

BIBLIOGRAFIA

- "Hepatitis B Fact sheet N°204". who.int. July 2014. Archived from the original on 9 November 2014. Retrieved 4 November 2014.
- GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence, Collaborators. (8 October 2016). "Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015". *Lancet*. 388 (10053): 1545–1602.
- Schilsky ML (2013). "Hepatitis B "360"". *Transplantation Proceedings*. 45 (3): 982–985. doi:10.1016/j.transproceed.2013.02.099. PMID 23622604.
- Lok AS, McMahon BJ (February 2007). "Chronic hepatitis B". *Hepatology*. 45 (2): 507–39. doi:10.1002/hep.21513. PMID 17256718.
- Rysgaard, Carolyn D; Morris, Cory S; Drees, Denny; Bebbler, Tami; Davis, Scott R; Kulhavy, Jeff; Krasowski, Matthew D (2012). "Positive hepatitis B surface antigen tests due to recent vaccination: a persistent problem". *BMC Clinical Pathology*. 12 (1): 15. doi:10.1186/1472-6890-12-15. Retrieved 11 March 2014.

GLOSARIO DE SIMBOLOS

	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Consultar el Inserto		Lote
	Dispositivo medico de diagnóstico in vitro		Fecha de vencimiento
	Fabricante		No reusable
	Cantidad suficiente para <n> ensayos		



Assure Tech. (Hangzhou) Co., Ltd.
Building 4, No. 1418-50, Moganshan Road,
Gongshu District, Hangzhou,
310011 Zhejiang, P.R. China