



Instrucciones de uso para la prueba

CERTUM HAV IgM Serum/Plasma Test Cassette

Uso Previsto

La prueba en un paso para HAV IgM es un rápido ensayo inmunocromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra el virus de la Hepatitis A (HAV) en muestras de Suero/Plasma como apoyo en el diagnóstico del Virus de la Hepatitis A.

El virus de la Hepatitis A (HAV), un virus RNA pequeño (picornavirus) con 27nm de diámetro, es el agente causal de la hepatitis A (HA). El HAV está presente en el citoplasma de las heces, suero, biliar e hígado del paciente. Tiene una fuerte resistencia *in vitro* y puede soportar calor de 60°C por hasta 4 horas, puede tolerar medios ácidos con pH 3.0, y puede sobrevivir a temperaturas bajas por largos periodos de tiempo. El HAV se presenta en la sangre y heces de pacientes o individuos con una infección latente de las fases tardías de incubación hasta 2-3 semanas después del inicio de los síntomas. Hasta el momento, no se han identificado portadores crónicos del virus a largo plazo. El HAV por lo general se excreta mediante las heces y se transmite mediante manos, agua, comida y utensilios contaminados, etc. Se esparce por lo regular de una manera esporádica mediante el contacto diario. Si se expone a agua contaminada, comida cruda incluyendo almejas y ostras, pudiera ocurrir un brote. La incidencia de HAV tiene un apogeo de aparición durante la infancia, seguida de la adultez temprana. Una vez se recuperan de la infección, los pacientes pueden obtener inmunidad permanente contra el HAV, pero no hay inmunidad cruzada contra otros tipos de virus de la hepatitis.

La prevalencia de infección por HAV tiene una incidencia mucho mayor durante el otoño y el invierno, y ocasionalmente durante la primavera y el verano. Cada 3-5 o 6-7 años ocurren picos en la incidencia de HAV. Las rutas de transmisión de HA incluyen: (1) la ruta fecal-oral. La aparición de HAV en heces recolectadas de humanos infectados experimentalmente es de 2-3 semanas antes a 8 días después de la aparición de los síntomas, y no se observa infecciosidad entre 19 días a 4 semanas después de la ictericia. La HA puede esparcirse mediante contacto cercano de persona a persona o mediante contaminación fecal de comida o agua. (2) Esparcimiento mediante transfusión sanguínea o inyección: la viremia transitoria puede ocurrir después de la infección con el virus, y las inyecciones percutáneas son una ruta común de transmisión.

Principio

La prueba One Step HAV IgM Test es un inmunoensayo cualitativo basado en una tira con membrana para la detección de anticuerpos IgM contra el Virus de la Hepatitis A en Suero/Plasma. El dispositivo de prueba consiste de: 1) una almohadilla de conjugado color borgoña que contiene antígenos de la envoltura recombinantes de HAV conjugados con Oro Coloidal (conjugados HAV) y conjugados de anticuerpo IgG de conejo con oro coloidal, 2) una tira con membrana de nitrocelulosa que contiene una línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La línea T está pre-recubierta con el anticuerpo para la detección de anticuerpos IgM anti-HAV, y la línea C está pre-recubierta con anticuerpo IgG de cabra anti conejo.

Cuando se administra un volumen adecuado de muestra en el pocillo de muestra de la tira de prueba, la muestra migra por acción capilar a través de la tira. Si hay anticuerpos IgM anti-HAV presentes en la muestra, estos se enlazarán a los conjugados de HAV.

Entonces, el reactivo recubierto en la línea T captura el inmunocomplejo, formando una línea T color borgoña lo que indica un resultado positivo a HAV IgM e indica una infección reciente. La ausencia de una línea T indica un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (línea C) el cual debe mostrar un línea color borgoña del inmunocomplejo de conjugado de anticuerpo IgG de cabra anti conejo/conjugado de anticuerpo de conejo IgG-oro coloidal sin importar el desarrollo del color en la línea T. De otra manera, se considera inválido el resultado de la prueba y la muestra se debe volver a analizar con otro dispositivo.

Almacenamiento y Estabilidad

Almacenar de 4 a 30°C en un lugar seco y evite exponerse a luz solar directa. No se congele. Útil por 24 meses desde su fecha de fabricación.

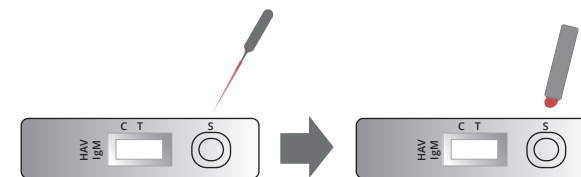
Requisitos de la Muestra

1. La prueba One Step HAV IgM Test se puede realizar en Suero/Plasma.
2. Para recolectar muestras de sangre entera siguiendo los procedimientos normales de laboratorio clínico.
3. Separe el Suero/Plasma de la sangre entera tan pronto sea posible para evitar la hemolisis. Use solamente muestras claras no hemolizadas.
4. El análisis debe realizarse inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos prolongados. Las muestras de suero y plasma pueden ser almacenadas a 2-8°C por hasta 3 días. Para almacenamiento a largo plazo, las muestras se deberán mantener a menos de -20°C.
5. Permita que las muestras alcancen temperatura ambiente antes de analizarlas. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y bien mezcladas antes de analizarlas. No se debe congelar y descongelar repetidamente las muestras.

Procedimiento de la Prueba

Permita que la prueba, muestra, buffer y/o controles alcancen temperatura ambiente 15-30°C (59-86°F) antes de realizar la prueba.

1. Permita que el sobre alcance temperatura ambiente antes de abrirlo.
2. Añada 10 µl de la muestra de suero/plasma al pocillo de muestra.
3. Añada 100 µl o 2-3 gotas del buffer en el pocillo de muestra.
4. Espere que aparezcan las líneas teñidas. Lea los resultados a los 15 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.



Interpretación de los Resultados

1. **Positivo:** Aparecen dos líneas color púrpura tanto en la línea de prueba (T) como la línea de control (C) lo cual indica un resultado positivo.



2. **Negativo:** Solo aparece una línea de color en la línea de control (C) lo que indica un resultado negativo.



3. **Inválido:** Si no aparecen líneas color púrpura en la línea de control (C) esto indica un proceso de ensayo incorrecto o falla del kit. Lea atentamente las instrucciones y repita la prueba con un nuevo kit. Si el problema persiste, deberá inmediatamente dejar de usar los kits con el mismo No. de Lote y contactar a su proveedor local.



Limitaciones

1. Los resultados de este kit son sólo apropiados para referencia clínica y no deberán ser usados como criterios para diagnóstico y tratamiento clínico. Un diagnóstico definitivo de infección por HAV deberá ser combinado con historial clínico, síntomas, otras pruebas de laboratorio, respuesta a tratamiento y epidemiología.
2. En las etapas tempranas de la infección, títulos bajos o negativos de anticuerpos IgM pudieran llevar a resultados negativos; por lo tanto, si se sospecha, se le deberá aconsejar al paciente volver a examinarse dentro de 7-14 días. Se deberá extraer una segunda muestra y se deberá realizar una prueba en paralelo de la muestra anterior para confirmar si ha ocurrido seroconversión o si los títulos de anticuerpos IgM o IgG se han incrementado de manera notoria.
3. Los valores altos de anticuerpos IgG específicos al virus cabrán en el área de combinación de anticuerpos y prevendrán mediante competencia que se enlacen los anticuerpos IgM, lo cual pudiera causar una sensibilidad baja, un falso valor bajo o resultados negativos.
4. Ya que una prueba de laboratorio no puede identificar de manera confiable el riesgo de infección en infantes, no se recomienda analizar mujeres embarazadas asintomáticas con este kit, y los resultados del kit no deben usarse como el único criterio para la interrupción del embarazo.
5. Los resultados obtenidos de pacientes con disfunción inmune o que se sometieron a terapia inmunosupresora son de poco valor de referencia.
6. Se debe tener cuidado al analizar resultados positivos si las muestras fueron obtenidas de individuos que recibieron transfusiones sanguíneas hace pocos meses.
7. Los anticuerpos IgM específicos al virus pudieran aparecer no solo durante la infección inicial, sino también en la infección secundaria y recurrente.

Desempeño del Producto

1. Los materiales estándar utilizados en este kit deben ser productos nacionales o comerciales. Los estándares utilizados para controles negativos y positivos, límite mínimo de detección, y repetitividad debe ser acorde a los requisitos correspondientes. La funcionalidad del producto deberá ser estable de $37\pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 días.
2. Un estudio clínico de cohorte de 1050 casos demostró que, en comparación de otros kits comerciales de diagnóstico, este kit mostró una buena correlación con una tasa de concordancia del 95.68% para resultados positivos, y una tasa de concordancia del 99.78% para resultados negativos, y una tasa de concordancia total de 99.24%.
3. Sustancias interferentes: muestras de suero con hiperlipemia (concentración de triglicéridos > 25.0mg / mL), ictericia (concentración de bilirrubina > 0.2mg / mL) y hemólisis (concentración de hemoglobina > 5.0mg / mL) pueden tener efectos adversos en los resultados. Para obtener resultados fiables, se recomienda evitar el uso de este tipo de muestras.
4. Especificidad: no se observaron reacciones cruzadas entre la IgM y los siguientes anticuerpos: anticuerpos IgM de Rotavirus, anticuerpos IgM de virus Coxsackie (COX), anticuerpos IgM de Adenovirus (ADV), anticuerpos IgM de Enterovirus 71 (EV71), anticuerpos IgM de Poliovirus, Anticuerpos IgM de Echovirus (ECHO), anticuerpos IgM de virus de la fiebre amarilla (YFV), anticuerpos IgM de virus EB, anticuerpos IgM de citomegalovirus (CMV), anticuerpos IgM de virus de la hepatitis E (HEV), anticuerpos IgM de virus transmitidos por transfusión (TTV), Anticuerpos IgM del virus de Rubeola (RV), Anticuerpos IgM de Toxoplasma Gondii (TOXO), Anticuerpo IgM de Virus de Herpes Simplex Tipo II (HSV-II), Anticuerpo IgM de Virus de la Hepatitis B (HBc), Factor Reumatoide (RF), Anticuerpos anti-mitocondrial (AMA), anticuerpos antinucleares (ANA), antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos del virus de la hepatitis C (HCV), anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y anticuerpos Treponema Pallidum (TP), etc.

Precauciones

1. Use muestras frescas siempre que sea posible.
2. Los resultados son inválidos si se obtienen después de 20 minutos de haber completado la prueba.
3. No se deberán usar muestras con contaminación bacteriana, hiperlipemia, ictericia, y/o hemólisis.
4. El producto debe usarse tan pronto sea posible una vez se abra el sobre de aluminio en caso de exposición a largo plazo al ambiente.
5. Los residuos derivados de este kit durante y después de su uso pudieran presentar un riesgo biológico en potencia. Los residuos deberán ser dispuestos de acuerdo a Normas de Seguridad Biológica de Protocolos de Patógenos Microbiológicos de Laboratorio para evitar contaminación y peligro a los humanos y al medio ambiente.

Referencias

Writing Guidelines for In Vitro Diagnostic Tests, 2007.

Roque-afonso AM, Grangeot-keros L, Roquebert B, et al. Diagnostic relevance of immunoglobulin G avidity for hepatitis A virus. J Clin Microbiol, 2004, 42(11): 5121-5124.