

## Prueba rápida cualitativa para la detección de anticuerpos IgM contra el virus de la hepatitis A en suero o plasma.

### USO DE LA PRUEBA

La prueba rápida de un solo paso HAV IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos IgM del virus de hepatitis A (HAV) en suero o plasma humano. Está diseñada para ser usada como una prueba de tamizaje y como una ayuda en el diagnóstico de la infección con HAV. Cualquier espécimen que reaccione con la prueba rápida de HAV IgM debe ser confirmado con métodos alternativos e historial clínico.

### INTRODUCCION

El HAV es un virus de RNA positivo y único miembro de la familia picornaviridae. Su transmisión depende principalmente de la transmisión persona a persona por la vía fecal-oral. Aunque la hepatitis A no es una enfermedad ordinariamente transmitida sexualmente, la tasa de infección es mayor en hombres homosexuales, como resultado del contacto oral-anal. La presencia de anticuerpos específicos IgM anti-HAV en muestras de sangre sugieren infección reciente o aguda.

El título de anticuerpos IgM rápidamente se incrementan en un periodo de 4-6 semanas después de la infección, y después declinan a niveles no detectables en un periodo de 3 a 6 meses en la mayoría de los pacientes. La prueba rápida de HAV IgM es para ser usada en la detección de IgM anti-HAV en menos de 15 minutos por personal mínimamente entrenado, con equipo básico de laboratorio.

### PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba rápida de HAV IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral de un solo paso. El cassette de prueba consiste en: una almohadilla de conjugado coloreado conteniendo anticuerpo de ratón anti-IgM humano conjugados con oro coloidal (IgM conjugado) y una membrana de nitrocelulosa conteniendo una línea de prueba (T) y una línea de control (C), la línea T esta pre-impregnada con antígeno HAV recombinante, y la línea C esta pre-impregnada con anticuerpos anti-IgM de ratón. Cuando un volumen adecuado de muestra es dispensado en el orificio de muestra del cassette, la muestra migra por acción capilar a través del cassette. Si el anticuerpo IgM anti-HAV está presente en la muestra se unirá al conjugado IgM. El inmunocomplejo es entonces capturado en la membrana por los antígenos HAV pre-impregnados, formando una línea T rojiza, indicando un resultado positivo a IgM anti-HAV. La ausencia de la línea T sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (línea C) el cual debe exhibir una línea color rojiza del inmunocomplejo de IgG de cabra anti-ratón/IgM-oro coloidal, independientemente que se haya formado o no la línea T. De otra manera, el resultado de la prueba será inválido y se tendrá que reevaluar con otro cassette.

### REACTIVOS Y MATERIAL SUMINISTRADO

- Cada kit contiene 25 cassettes, cada uno sellado en bolsa de aluminio.
- 25 Botes de muestra con solución buffer 2ml c/u.
- Pipeta capilar 2 µL.
- Un instructivo.

### MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

- Cronómetro.
- Lanceta para extracción de sangre.

### PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1. Se debe leer y entender el instructivo completamente antes de realizar la prueba. Errores en el seguimiento del instructivo puede provocar imprecisión en los resultados.

2. No abra el sobre metalizado hasta que esté listo para hacer la prueba.

3. No utilice equipos caducados.

4. Lleve todos los reactivos a temperatura ambiente (15-30°C) antes de su uso.

5. No utilice componentes de ningún otro kit como sustituto de algún componente de este kit.

6. No utilice sangre hemolizada para la prueba.

7. Utilice ropa protectora y guantes desechables mientras utilice reactivos y muestras. Lave las manos a fondo después de realizar la prueba.

8. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales de la CDC para prevenir la transmisión de HIV, HBV y otros patógenos de transmisión sanguínea.

9. No fume, beba o coma en áreas donde las muestras o reactivos sean manipulados.

10. Trate todos los materiales y muestras como agentes potencialmente infecciosos.

11. Los resultados deben leerse 15 minutos después de aplicar los especímenes a la prueba, lecturas después de los 15 minutos pueden dar resultados erróneos.

12. No realice la prueba en habitaciones con fuerte flujo de aire, frente a un ventilador o fuerte aire acondicionado.

### PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAJE

Todos los reactivos esta listos para usarse. Almacene todas las pruebas sin usar, selladas de 2-30°C. Si almacena entre 2-8°C asegúrese de llevar a temperatura ambiente todos los reactivos y pruebas a utilizar. Las pruebas son estables hasta la fecha de expiración impresa en el empaque. No congele el kit ni lo exponga a temperaturas superiores a 30°C.

### MANEJO Y RECOLLECCION DE MUESTRAS

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad estándar.

#### Plasma

1. Colecte la muestra sanguínea en un tubo con tapa azul o verde por venopunción.

2. Separe el plasma por centrifugación.

#### Suero

1. Colecte la muestra sanguínea por venopunción en un tubo con tapa roja.

2. Permita que se forme completamente el coagulo.

3. Separe el suero por centrifugación.

Utilice las muestras tan pronto como sea posible después de su obtención. Almacene la muestras a 2-8°C sino son probadas inmediatamente. Las muestras así almacenadas pueden durar hasta 5 días para ser probadas. Para un almacenaje por largos periodos de tiempo almacene a -20°C. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamiento. Antes de probar las muestras deberán ser llevadas a temperatura ambiente de forma progresiva, mezcle gentilmente. Las muestras que contengan partículas visibles deberán ser clarificadas por centrifugación antes de probar. **NO UTILICE MUESTRAS CON LIPEMIA, HEMOLISIS O TURBIDES EXCESIVAS.**

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Lleve todos los reactivos y muestras refrigerados o congelados a temperatura ambiente. Mezcle bien las muestras que fueron descongeladas.

2. Cuando esté listo para realizar la prueba, abra el sobre metalizado. Coloque el cassette sobre una superficie limpia y horizontal.

3. Etiquete el cassette con el nombre del paciente o numero de muestra en la zona de ID.

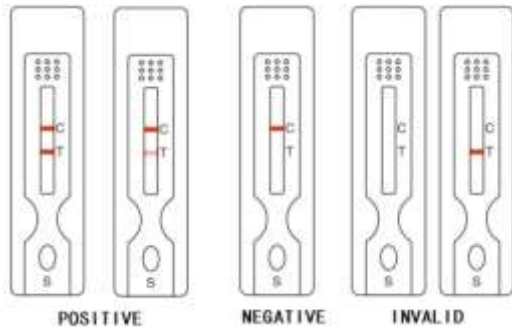
4. Llene la pipeta con muestra (2 microlitros). Manteniendo la pipeta verticalmente dispense los 2 µL en el bote de muestra con solución buffer y mezcle por inversión durante unos minutos.

5. Después agregue 2 gotas de buffer con muestra (80-100 µL).

6. Accione el cronómetro.
7. Los resultados pueden ser leídos en 20 minutos.

**Nota: no leer después de 20 min.**

#### INTERPRETACION



#### CONTROL DE CALIDAD

Un control de calidad interno está incluido en la prueba. La línea coloreada en la región de la línea de control (C), es un control interno del procedimiento. Este confirma que se utilizó el suficiente volumen de muestra, que la membrana se humedeció adecuadamente y se utilizó la correcta técnica del procedimiento.

#### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. La prueba rápida HAV IgM está limitada a resultados cualitativos para la detección de IgM anti-HAV en suero o plasma humano. La intensidad de la línea de prueba (T) no tiene correlación lineal con la concentración de anticuerpos en la muestra.
2. Un resultado negativo con la prueba indica ausencia de anticuerpos detectables anti-HAV. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de la exposición a HAV o una infección con el mismo.
3. Un resultado negativo puede aparecer si la cantidad de IgM anti-HAV presente en la muestra está por debajo de los niveles detectables de la prueba, o los anticuerpos que se detectan no están presentes en la etapa de la enfermedad en la que se encuentra el paciente.
4. Algunas muestras contienen altos títulos de anticuerpos heterofilos o el factor reumatoide puede afectar los resultados esperados.
5. Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados solamente en conjunción con otros procedimientos de diagnóstico e historial clínico.

#### CARACTERISTICAS DEL ENSAYO

Un total de 200 muestras de sujetos susceptibles fueron probadas con la prueba rápida de HAV IgM de MEXLAB y por un ensayo por ELISA comercial. La comparación de todos los sujetos se muestra a continuación:

Método	ELISA		Total de resultados	
	Resultados	Positivo		Negativo
HAV IgM MEXLAB	Positivo	21	1	22
	Negativo	0	178	178
Total de resultados		21	179	200

SENSIBILIDAD RELATIVA: >99.5%

ESPECIFICIDAD RELATIVA: 100%

PRESICION: 99.5%

#### REFERENCIAS

1. Minor P. Picornaviridae. In: Francki RIB, Fauquet CM, Knudson DL, et al., eds. Classification and nomenclature of viruses (Arch Virol Supp 2). Wien: Springer-Verlag, 1991: 320-326.
2. Ballesteros J, Dal-Re R, Gonzalez A, del Romero J. Are homosexual males a risk group for hepatitis A infection in intermediate endemicity aéreas? Epidemiol Infect. 1996; 117(1):145-8.
3. 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: 521-530.