

Cassette de prueba rápida HCV (sangre total/suero/plasma)

Inserto

REF IHCV-C41 Español

Prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos contra el virus de la Hepatitis C en sangre total, suero o plasma.
Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

USO PREVISTO

El casete de prueba rápida del HCV (sangre total, suero o plasma) es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos del virus de la Hepatitis C en sangre total, suero o plasma.

RESUMEN

El virus de la Hepatitis C es un virus de ARN monocatenario, pequeño, envuelto y sentido positivo. Ahora se sabe que HCV es la principal causa de hepatitis no A, no B transmitida por vía parenteral. El anticuerpo contra el VHC se encuentra en más del 80% de los pacientes con hepatitis no A, no B bien documentada. Los métodos convencionales no logran aislar el virus en cultivo celular ni visualizarlo mediante microscopio electrónico. La clonación del genoma viral ha hecho posible desarrollar ensayos serológicos que utilizan antígenos recombinantes.^{1, 2} En comparación con los EIA del VHC de primera generación que utilizan un solo antígeno recombinante, se han añadido múltiples antígenos que utilizan proteínas recombinantes y / o péptidos sintéticos en nuevas pruebas serológicas para evitar reactividad cruzada inespecífica y aumentar la sensibilidad de las pruebas de anticuerpos del VHC.^{3,4}

El casete de HCV es una prueba rápida para detectar cualitativamente la presencia de anticuerpos contra el HCV en sangre total, suero o plasma. La prueba utiliza un conjugado de oro coloidal y proteínas del VHC recombinantes para detectar de forma selectiva anticuerpos contra el VHC en sangre total, suero o plasma. Las proteínas recombinantes del VHC utilizadas en el kit de prueba están codificadas por los genes de proteínas estructurales (nucleocápside) y no estructurales.

PRINCIPIO

El casete de prueba rápida de VHC (sangre total / suero / plasma) es una membrana cualitativa de inmunoensayo basado en la detección de anticuerpos contra el VHC en sangre total, suero o plasma. La membrana está precubierta con antígeno del VHC recombinante en la región de la línea de prueba del casete. Durante la prueba, la muestra de sangre total, suero o plasma reacciona con oro coloidal conjugado con antígeno del VHC recombinante. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográfica por acción capilar para reaccionar con el antígeno del VHC recombinante en la membrana y generar una línea de color. La presencia de esta línea de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para que sirva como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

REACTIVOS

El casete de prueba contiene oro coloidal conjugado con antígeno HCV recombinante y con antígeno HCV recubierto en la membrana.

PRECAUCIONES

Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro. No usar después de la fecha de caducidad. No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o kits.

Manipule las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante el procedimiento y siga las normas y procedimientos para la eliminación adecuada de las muestras.

Use ropa protectora como batas, guantes y protección para los ojos.

Las pruebas, muestras y materiales contaminados usados deben desecharse según las normativas.

La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit puede almacenarse a temperatura ambiente o refrigerar (2-30°C). El test es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. El casete de prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. NO CONGELAR. No usar después de la fecha de vencimiento.

TOMA Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El casete de prueba rápida de VHC (sangre total / suero / plasma) se puede realizar usando sangre total (de venopunción o punción dactilar), suero o plasma.

Para toma de muestras de sangre total por punción dactilar:

- Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón o con un hisopo con alcohol y seque.
- Masaje la mano sin tocar el lugar de punción frotando la mano hacia la punta del dedo medio o anular.
- Pinche el dedo con una lanceta esterilizada. Limpie la primera sangre.
- Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma y el dedo hasta formar una gota de sangre redondeada sobre el sitio de punción.
- Añada la gota de sangre del dedo a la prueba usando un tubo capilar.
- Toque el extremo del capilar con la sangre hasta que se llene aproximadamente 50 µL.
- Evite que se formen burbujas de aire.
- Coloque el bulbo dispensador en el extremo del capilar, luego apriete y dispense la sangre en el área de la muestra del casete de prueba.

Suero y plasma

- Separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar hemólisis, solo se pueden utilizar muestras transparentes no hemolizadas.
- Las pruebas deben realizarse inmediatamente después que se hayan recolectado las muestras. No dejar las muestras a temperatura ambiente por largo tiempo.
- Las muestras pueden almacenarse a 2-8°C hasta por 3 días. Para almacenar por un largo tiempo, las muestras deben mantenerse debajo de los -20°C. La sangre total recolectada por venopunción debe almacenarse a 2-8°C, si la prueba debe realizarse dentro de los 2 días posteriores a la recolección.
- No congele muestras de sangre total, la sangre total por punción dactilar debe procesarse inmediatamente.

- Antes de la prueba las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente.
- Las muestras congeladas deben estar descongeladas completamente y mezcladas bien antes de la prueba.
- Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
- Si las muestras deben enviarse, se debe de empaquetar de acuerdo a las normas de transporte de agentes etiológicos.

MATERIALES

Casete de prueba Goteros MATERIALES PROPORCIONADOS Buffer Inserto

Materiales necesarios, pero no proporcionados

Recipientes para toma de muestras
Centrifuga (solo para plasma)
Cronómetro
Lancetas (solo para punción dactilar)
Tubos capilares heparinizados y bulbo dispensador (solo para punción dactilar)

INSTRUCCIONES DE USO

Dejas a temperatura ambiente(15-30°C) el casete, la muestra y los controles antes de la prueba.

- Dejar la bolsa de la prueba a temperatura ambiente antes de abrirla. Retirar el casete de la prueba de la bolsa y utilizarlos lo antes posible. Se obtendrá mejores Resultados si la prueba se realiza dentro de una hora.
- Colocar el casete en un lugar limpio y seguro.

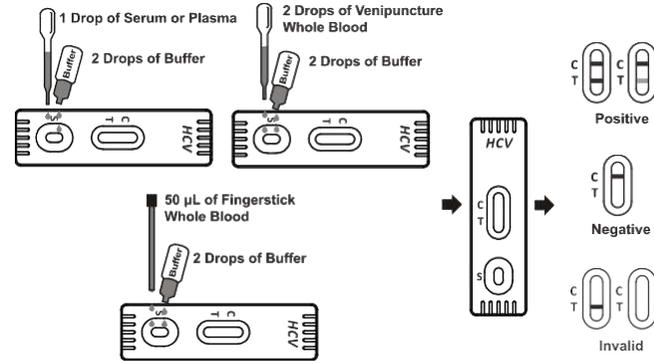
Para muestras de Suero o Plasma: con el gotero de manera vertical colocar una gota de Suero o plasma (25 µL) en el área de la muestra, luego agregar 2 gotas de buffer (80 µL), y poner en marcha el cronómetro. Ver la imagen a continuación.

Para muestras por venopunción: con el gotero de manera vertical colocar 2 gotas de sangre total (50 µL) en el área de la muestra, luego agregar 2 gotas de buffer (80µL), y poner en marcha el cronómetro. Ver la imagen a continuación.

Para muestras por punción dactilar:

Para utilizar un tubo capilar: llene el tubo capilar, y coloque 50 µL de muestras de sangre total dactilar en el área de muestra del casete de la prueba, luego agregar 2 gotas de buffer (80µL), y poner en marcha el cronómetro. Ver la imagen a continuación.

- Espera a que aparezcan las líneas de color. El resultado de la prueba debe leerse a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

(Ver la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparecen dos líneas de diferente color. Una línea de color debe de estar en la región de control (C) y otra línea de color debe de estar en la región de prueba (T).

NOTA: La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará según la concentración de anticuerpos contra el VHC presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de rojo en la región de prueba debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea roja o rosa aparente en la región de prueba (T).

NO VÁLIDO: La línea de control no aparece. Muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles internos están incluidos en la prueba. Una línea de color que aparece en el control, la región (C) es un control de procedimiento positivo interno. Confirma que la muestra es suficiente. Los estándares de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento y verificar el desempeño adecuado de la prueba.

LIMITACIONES

- La prueba rápida del HCV es solo para uso de diagnóstico in vitro. Esta prueba de usarse para la detección de anticuerpos contra el HCV en muestras de sangre total, suero o plasma.
- La prueba rápida de VHC (sangre total / suero / plasma) solo indicará la presencia de anticuerpos contra el VHC en la muestra y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de la infección viral por hepatitis C.

- Al igual que en todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben relacionarse con otra información clínica disponible para el médico.
- Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas de seguimiento utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo en cualquier momento no excluye la posibilidad de infección por el virus de la hepatitis C.

VALORES ESPERADOS

La prueba rápida del VHC (sangre total / suero / plasma) se ha comparado con una prueba de VHC comercial líder. La correlación entre estos dos sistemas es superior al 99%.

CARACTERÍSTICAS DE LA PRESENTACIÓN

Sensibilidad y especificidad

El antígeno recombinante utilizado para la prueba rápida del VHC (sangre total / suero / plasma) está codificado por genes para proteínas estructurales (nucleocápside) y no estructurales. El casete de prueba rápida del VHC (sangre total / suero / plasma) ha pasado un panel de seroconversión y se ha comparado con una prueba comercial líder del VHC que utiliza muestras clínicas.

Los resultados muestran que la sensibilidad relativa del casete de prueba rápida del VHC (sangre total / suero / plasma) es del 100,0% y la especificidad relativa es superior al 99,8%.

Método	Prueba comercial líder			Resultado total
	Resultados	Positivo	Negativo	
	HCV prueba rápida (sangre total/ Suero/plasma)	Positivo	410	
	Negativo	0	1644	1644
Resultado total		410	1647	2057

Sensibilidad relativa:

410/410=100.0%(95%CI*:99.3%~100.0%);

Especificidad relativa 1644/1647=99.8%(95%CI*:99.4%~100%);

Precisión (410+1644)/(410+0+1644+3)=99.9%(95%CI*:99.6%~100.0%).

Intervalos de confianza

Precisión Intra-análisis

La precisión intra-análisis se ha determinado mediante el uso de 20 réplicas de tres muestras: una negativa, una positiva de título bajo y una de título alto de VHC. Los valores negativos, positivos de título bajos y de títulos altos de VHC se identificaron correctamente el 100% de las veces.

Intra-análisis

La precisión entre análisis se ha determinado mediante 20 ensayos independientes en las mismas tres muestras: una negativa, una positiva de título bajo y una positiva de título alto de VHC. Se han analizado tres lotes diferentes del casete de la prueba rápida del VHC durante un período de 3 meses utilizando muestras negativas, positivas de bajo título y positivas de alto título de VHC. Las muestras se identificaron correctamente el 100% del tiempo.

Reacción cruzada

El casete de prueba rápida (sangre total, Suero, plasma) ha sido probado con muestras positivas de HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HbCAb, Sifilis, HIV, H. Pylori, MONO, CMV, Rubeola y toxoplasma. Los resultados no demostraron reacción cruzada.

Sustancias que interfieren

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a las muestras positivas y negativas del HCV.

Acetaminofén: 20 mg/dL

Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dL

Ácido ascórbico: 2g/dL

Creatinina: 200 mg/dL

Bilirrubina: 1g/dL

Ninguna de las sustancias mencionadas con su respectiva concentración interfirió en el análisis.

BIBLIOGRAFÍA

- Choo, Q.L., G. Kuo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley, and M. Houghton. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science 1989; 244:359
- Kuo, G., Q.L. Choo, H.J. Alter, and M. Houghton. An assay for circulating antibodies to a major etiologic Virus of human non-A, non-B hepatitis. Science 1989; 244:362
- van der Poel, C. L., H.T.M. Cuyper, H.W. Reesink, and P.N.Lelie. Confirmation of hepatitis C Virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. Lancet 1991; 337:317
- Wilber, J.C. Development and use of laboratory tests for hepatitis C infection: a review. J. Clin. Immunology 1993; 16:204