

Una prueba rápida para la detección cualitativa del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos contra el virus de la hepatitis C y anticuerpos contra el VIH tipo 1, tipo 2 en sangre total, suero o plasma.

Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

**[USO PREVISTO]**

El casete de prueba rápida HBsAg / HCV / HIV Combo (sangre total/suero/plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos del virus de la hepatitis C y anticuerpos del VIH tipo 1, tipo 2 en sangre total, suero o plasma.

**[RESUMEN]**

La prueba rápida de HBsAg/VHC/VIH (sangre total/suero/plasma) es una prueba rápida para detectar cualitativamente la presencia de antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos contra el virus de la hepatitis C y anticuerpos contra el VIH tipo 1, tipo 2 en su totalidad. muestra de sangre, suero o plasma.

HBsAg: la prueba utiliza una combinación de anticuerpos monoclonales y policlonales para detectar selectivamente niveles elevados de HBsAg en sangre total, suero o plasma. La hepatitis viral es una enfermedad sistémica que afecta principalmente al hígado. La mayoría de los casos de hepatitis viral aguda son causados por el virus de la hepatitis A, el virus de la hepatitis B (VHB) o el virus de la hepatitis C. El antígeno complejo que se encuentra en la superficie del VHB se llama HBsAg. Las designaciones anteriores incluían el antígeno Australiano o Au.1 La presencia de HBsAg en sangre total, suero o plasma es una indicación de una infección activa por hepatitis B, ya sea aguda o crónica. En una infección típica de hepatitis B, el HBsAg se detectará de 2 a 4 semanas antes de que el nivel de ALT se vuelva anormal y de 3 a 5 semanas antes de que se desarrollen los síntomas o la ictericia. HBsAg tiene cuatro subtipos principales: adw, ayw, adr y ayr. Debido a la heterogeneidad antigénica del determinante, existen 10 serotipos principales del virus de la hepatitis B.

VHC: la prueba utiliza un conjugado de oro coloidal y proteínas de 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.

El virus de la hepatitis C (VHC) es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo, pequeño y envuelto. Actualmente se sabe que el VHC es la principal causa de hepatitis no A y 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.2,3 En comparación con los EIA del VHC de primera generación que utilizan un único antígeno recombinante, se han añadido múltiples antígenos que utilizan proteínas recombinantes y / o péptidos sintéticos en nuevas pruebas serológicas para evitar la reactividad cruzada inespecífica y aumentar la sensibilidad de las pruebas de anticuerpos contra el VHC.4,5

VIH: la prueba utiliza un conjugado de látex y múltiples proteínas recombinantes del VIH para detectar selectivamente anticuerpos contra el VIH 1.2 en sangre total, suero o plasma.

El VIH es el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El virión está rodeado por una envoltura lipídica que se deriva de la membrana de la célula huésped. Varias glicoproteínas virales están en la envoltura. Cada virus contiene dos copias de ARN genómicos de sentido positivo. El VIH 1 se ha aislado de pacientes con sida y complejo relacionado con el sida, y de personas sanas con alto riesgo potencial de desarrollar sida.6 El VIH 2 se ha aislado de pacientes con sida de África Occidental y de individuos asintomáticos seropositivos.7 Tanto el VIH 1 como el VIH 2 desencadenan una respuesta inmunitaria.8 La detección de anticuerpos contra el VIH en suero, el plasma es la forma más eficaz y común de determinar si una persona ha estado expuesta al VIH y de detectar el VIH en sangre y productos sanguíneos.9 A pesar de las diferencias en sus características biológicas, actividades serológicas y secuencias del genoma, el VIH 1 y el VIH 2 muestran una fuerte reactividad cruzada antigénica.10,11 La mayoría de los sueros positivos para el VIH 2 pueden identificarse mediante pruebas serológicas basadas en el VIH 1.

**[PRINCIPIO]**

La prueba rápida de HBsAg/VHC/VIH (sangre total/suero/plasma) es un inmunoensayo tipo sándwich de dos sitios, cualitativo, de fase sólida para la detección del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos del virus de la hepatitis C y anticuerpos del tipo de VIH. 1, tipo 2 en sangre total, suero o plasma. Región de la línea de prueba de HBsAg: la membrana está prerrevestida con anticuerpos anti-HBsAg en la región de la línea T2 del casete. Durante la prueba, la muestra de sangre total, suero o plasma reacciona con la partícula recubierta con anticuerpos anti-HBsAg. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con los anticuerpos anti-HBsAg en la membrana y generar una línea de color. La presencia de esta línea de color en la región de prueba 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.

Región de la línea de prueba del VHC: la membrana está prerrevestida con antígeno del VHC recombinante en la región de la línea T1 del casete. Durante la prueba, la muestra de sangre completa, suero o plasma reacciona con oro coloidal conjugado con antígeno del VHC recombinante. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente 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 servir como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en región de la línea de control que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y se ha producido la absorción de la membrana.

**Región de la línea de prueba del VIH:** la membrana está prerrevestida con antígenos recombinantes del VIH en la región de la línea T3 del casete. Durante la prueba, la muestra de sangre total, suero o plasma reacciona con partículas recubiertas de antígeno del VIH en el casete de prueba. La mezcla luego migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar y reacciona con el antígeno recombinante del VIH en la membrana en la región de la línea de prueba. Si la muestra contiene anticuerpos contra el VIH 1 y / o el VIH 2, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba, lo que indica un resultado positivo. Si la muestra no contiene anticuerpos del VIH 1 y / o VIH 2, no aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba, lo que 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, lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y se ha producido la absorción de la membrana.

**[REACTIVOS]**

El casete de prueba contiene partículas conjugadas anti-HBsAg, anti-HBsAg recubiertas en la membrana; partículas conjugadas con antígeno de HCV recombinante, antígeno de HCV recubierto en la membrana; Partículas conjugadas de antígenos recombinantes de VIH1.2 y antígenos recombinantes de VIH1.2 recubiertos en la membrana.

**[PRECAUCIONES]**

- Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro. No lo use después de la fecha de vencimiento.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante todo el procedimiento y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección cuando se analizan las muestras.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

**[ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD]**

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

**[RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS]**

- El casete de prueba rápida combinada HBsAg / HCV / VIH (sangre total / suero / plasma) se puede realizar utilizando sangre completa, suero o plasma.
- Separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Solo se pueden utilizar muestras transparentes no hemolizadas.
- Las pruebas deben realizarse inmediatamente después de que se hayan recolectado las muestras.

No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras se pueden almacenar a 2-8 ° C hasta por 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 ° C. La sangre entera recolectada por venopunción debe almacenarse a 2-8 ° C si la prueba se va a realizar dentro de los 2 días posteriores a la recolección. No congele muestras de sangre entera.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelado repetidamente.

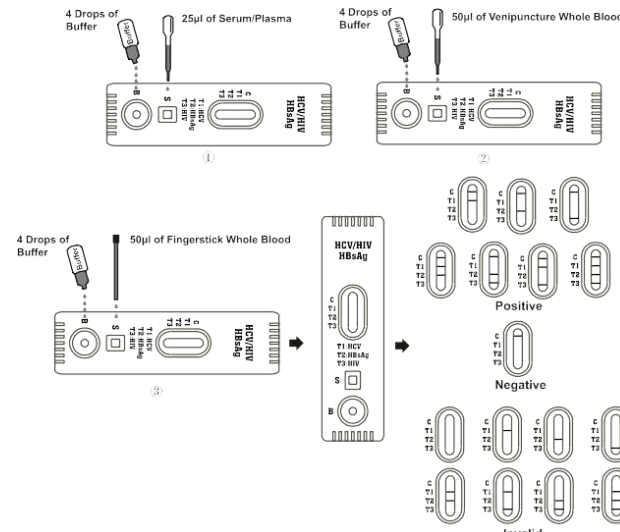
- Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones federales para el transporte de agentes etiológicos.

**[MATERIALES]**

Materiales proporcionados	
Casetes de prueba	Gotos
Buffer (0.02%NaNa <sub>3</sub> +0.025%Kanamycin Sulfate)	Ficha Técnica
Materiales requeridos pero no proporcionados	
Recipientes de recogida de muestras	Centrífuga (solo para plasma)
Temporizador	Lancetas (solo para sangre total por punción digital)
Tubos capilares heparinizados y bulbo dispensador (solo para sangre total por punción digital)	

**[DIRECCIONES DE USO]**

- Deje que el casete de prueba, la muestra y / o los controles se equilibren a temperatura ambiente (15-30 ° C) antes de realizar la prueba.
- Deje que la bolsa alcance la temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y utilícelo dentro de una hora.
  - Coloque el casete sobre una superficie limpia y nivelada. Para muestras de plasma/suero: Utilice una pipeta: Para transferir 1 gota de plasma / suero (aproximadamente 25 ul) a la muestra bien, luego agregue 4 gotas de tampón (aproximadamente 160 ul). Para muestra de sangre total:
    - Utilice una pipeta: para transferir 2 gotas de sangre completa de punción venosa (aproximadamente 50 ul) al pocillo de la muestra, luego agregue 4 gotas de tampón (aproximadamente 160 ul).
    - Utilice un tubo capilar: Llene el tubo capilar y transfiera aproximadamente 50 ul de la muestra de sangre completa por punción digital al pocillo de la muestra, luego agregue 4 gotas de tampón (aproximadamente 160 ul) e inicie el temporizador.
  - Espera a que aparezcan las líneas de color. Lea los resultados a los 15 minutos. No interprete el resultado después de 30 minutos.



**[INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS]**

(Consulte la ilustración anterior)  
 Positivo(+): Aparece una línea de color en la región de control (C). Aparece una línea de color en la región de prueba (T) al menos.  
 VHC positivo: aparece una línea en la región de control y una línea en la región de la línea T1.  
 HBsAg positivo: aparece una línea en la región de control y una línea en la región de la línea T2.  
 VIH positivo: aparece una línea en la región de control y una línea en la región de la línea T3.

Negativo (-): Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea violeta aparente en la región de prueba (T).  
 NO VÁLIDO: la línea C no aparece. Un volumen de 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 local.

**[CONTROL DE CALIDAD]**  
 Los controles de procedimiento internos están incluidos en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control de procedimiento positivo interno. 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 de prueba y verificar el desempeño adecuado de la prueba.

**[LIMITACIONES]**

- Esta prueba es solo para uso diagnóstico in vitro.
- Esta prueba ha sido desarrollada para analizar únicamente muestras de sangre total / suero / plasma. No se ha comprobado la realización de la prueba con otras muestras.
- Estas pruebas son una prueba de detección cualitativa. No está diseñado para determinar la concentración cuantitativa de HBsAg, anticuerpo del VHC o anticuerpo del VIH 1.2.
- La prueba rápida de HBsAg no puede detectar menos de 1 PEI ng / ml de HBsAg en las muestras.
- Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben considerarse junto 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 adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo en cualquier momento no excluye la posibilidad de HBsAg / o virus de la hepatitis C y / o VIH 1.2.

**[VALORES ESPERADOS]**

El casete de prueba rápida combinada HBsAg / VHC / VIH (sangre total / suero / plasma) se ha comparado con una prueba de EIA comercial líder, respectivamente. La correlación entre estos dos sistemas es del 99%.

**[CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN]**

Sensibilidad y especificidad

1. HBsAg

Method	EIA		Resultados Totales
	Positivo	Negativo	
Prueba rápida combinada HBsAg / VHC / VIH	Positivo	420	425
	Negativo	3	1595
Resultados Totales	423	1600	2023

Relative Sensitivity: Sensibilidad relativa: 99,3% (97,5% CI \*: 97,9% -99,9%)  
 Especificidad relativa: 99,7% (95% CI \*: 99,3% -99,9%)  
 Precisión: 99,6% (IC del 95% \*: 99,2% -99,8%) \* Intervalos de confianza

1.HCV

Method	EIA			Resultados Totales
	Resultados	Positivo	Negativo	
HBsAg /HCV /HIV Combo Rapid Test	Positivo	645	4	649
	Negativo	5	1369	1374
Resultados Totales		650	1373	2023

Relative sensitivity: Sensibilidad relativa: 99,2% (95% CI \*: 98,2% - 99,7%);  
 Especificidad relativa: 99,7% (IC del 95% \*: 99,3% - 99,9%);  
 Precisión: 99,6% (95% CI \*: 99,2% - 99,8%).

\*Intervalos de confianza

HIV 1.2

Method	EIA			Resultados Totales
	Resultados	Positivo	Negativo	
HBsAg /HCV /HIV Combo Rapid Test	Positivo	703	2	705
	Negativo	5	1313	1318
Resultados Totales		708	1315	2023

Sensibilidad relativa: 99,3% (97,5% CI \*: 98,4% - 99,8%); Especificidad relativa: 99,8% (IC del 95% \*: 99,5% - 100,0%);  
 Precisión: 99,7% (95% CI \*: 99,3% - 99,9%). \*Intervalos de confianza

**Intraensayo de precisión**

La precisión intra-análisis se ha determinado mediante el uso de 20 réplicas de cuatro muestras diferentes que contienen diferentes concentraciones de HBsAg, anticuerpo del VHC y anticuerpo del VIH 1.2. Los valores negativos y positivos se identificaron correctamente el 100% de las veces.

**Interensayo**

La precisión entre análisis se ha determinado mediante 20 ensayos independientes en las mismas cuatro muestras diferentes que contienen diferentes concentraciones de HBsAg, anticuerpo del VHC y anticuerpo del VIH 1.2. tres muestras: una negativa, una positiva de título bajo de VHC y una positiva de título alto de VHC. Se han analizado tres lotes diferentes del casete de prueba rápida combinada HBsAg / HCV / VIH (sangre total / suero / plasma) durante un período de 3 meses utilizando las muestras positivas y negativas anteriores. Las muestras se identificaron correctamente el 100% del tiempo.

**Reactividad cruzada**

La prueba rápida de HBsAg (sangre total / suero / plasma) ha sido probada con muestras positivas de HAMA, factor reumatoide (RF), VHA, sífilis, VIH, H. pylori, MONO, CMV, rubéola, VHC, VHE y TOXO. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

La prueba rápida del VHC (sangre total / suero / plasma) ha sido analizada con muestras positivas para HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, sífilis, VIH, H. Pylori, MONO, CMV, rubéola y TOXO. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

La prueba rápida del VIH 1.2 (sangre total / suero / plasma) ha sido probada con muestras positivas para HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, HCV, sífilis, H. Pylori, MONO, CMV, rubéola y TOXO. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

Sustancias que interfieren

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a las muestras positivas y negativas de HBsAg, anticuerpos del VHC y anticuerpos del VIH 1.2.

- |                                    |                            |
|------------------------------------|----------------------------|
| Acetaminofén: 20 mg / dL           | Cafeína: 20 mg / dL        |
| Ácido acetilsalicílico: 20 mg / dL | Ácido gástrico: 20 mg / dL |
| Ácido ascórbico: 2 g / dL          | Albúmina: 2 g / dL         |
| Creatina: 200 mg / dL              | Hemoglobina: 1000 mg / dL  |
| Bilirrubina: 1 g / dL              | Ácido oxálico: 60 mg / dL  |

Ninguna de las sustancias a la concentración probada interfirió en el ensayo.

**[BIBLIOGRAFIA]**

- Blumberg, B.S. The Discovery of Australian Antigen and its relation to viral hepatitis. *Vitro* 1971; 7: 223
- 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. Cuyppers, 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. Immunoassay* 1993; 16:204
- Chang, SY, Bowman, BH, Weiss, JB, Garcia, RE and White, TJ. The origin of HIV-1 isolate HTLV-III-B. *Nature* (1993) 336:466-9
- Arya, SK, Beaver, B, Jagodzinski, L, Ensoli, B, Kanki, PJ, Albert, J, Fenyo, EM, Biberfeld, G, Zagury, JF and Laure, F. New human and simian HIV-related retroviruses possess functional transactivator (tat) gene. *Nature* (1987) 328:548-550
- Caetano JA Immunologic aspects of HIV infection. *Acta Med Port* (1991) 4 Suppl 1:52S-58S
- Janssen, RS, Satten, GA, Stramer, SL, Rawal, BD, O'Brien, TR, Weiblen, BJ, Hecht, FM, Jack, N, Cleghorn, FR, Kahn, JO, Chesney, MA and Busch MP. New

testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and and for clinical and prevention purposes. *JAMA* (1998) 280(1): 42-48

- Travers, K, Mboup, S, Marlink, R, Gueye-Nidaye, A, Siby, T, Thior, I, Traore, I, Dieng-Sarr, A, Sankale, JL and Mullins, C. Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. *Science* (1995) 268:1612-1615
- Greenberg, AE, Wiktor, SZ, DeCock, KM, Smith, P, Jaffe HW and Dondero, TJ, Jr. HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection. *Science* (1996) 272:1959-1960

