

INTENDED USE

The CerTest HAV is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of Hepatitis A virus in stool samples.

INTRODUCTION

Hepatitis A is a liver infection caused by the hepatitis A virus (HAV). The virus is spread when an uninfected (or unvaccinated) person eats or drinks something contaminated by the stool of an HAV-infected person: this is called faecal-oral transmission. The symptoms of hepatitis A range from mild to severe, and can include fever, malaise, loss of appetite, diarrhoea, nausea, abdominal discomfort, dark-colored urine and jaundice (a yellowing of the skin and whites of the eyes). Not everyone who is infected will have all of the symptoms. Adults have signs and symptoms of illness more often than children, and the severity of disease and mortality increases in older age groups. Infected children under six years of age do not usually experience noticeable symptoms, and only 10% develop jaundice. Among older children and adults, infection usually causes more severe symptoms, with jaundice occurring in more than 70% of cases. Most people recover in several weeks - or sometimes months - without complications.

PRINCIPLE OF THE TEST

The CerTest HAV is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of Hepatitis A virus in fecal samples. The membrane is pre-coated with mouse monoclonal antibodies, on the test band region, against viral antigens. During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-Hepatitis A virus mouse monoclonal antibodies-red microspheres) which was pre-dried on the test. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured conjugate. The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a GREEN coloured band always appears. The presence of this GREEN band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

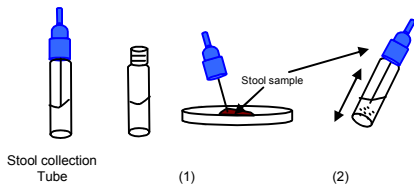
- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4°C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

Specimen preparation (see illustration):

- (1) Unscrew the cap and use the stick to pick up a little sample, if the stool sample was liquid take 100 µL using a pipette, and add the sample into the stool collection tube.
- (2) Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



MATERIALS PROVIDED

- Device tests (CerTest HAV)
- Instructions for use
- Stool collection tubes with sample diluent

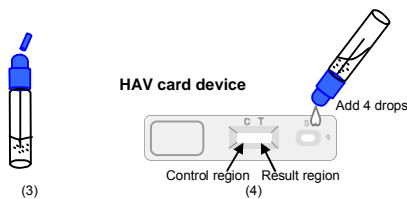
MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

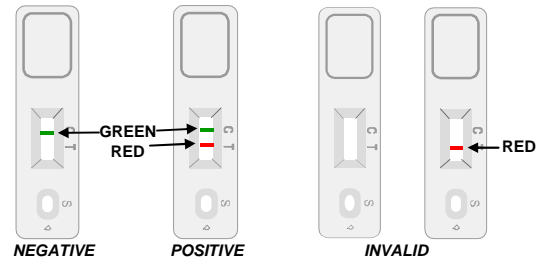
TEST PROCEDURE

Allow the tests, stool samples and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion. Cut the end of the cap (3).
2. Remove the CerTest HAV device from its sealed bag just before using.
3. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Dispense 4 drops or 100 µL into the circular window marked with an arrow (4).
- 4.- Read the result at **15 minutes** (the coloured bands appear).



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



NEGATIVE: Only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line). A negative result indicates no HAV infection. A confirmed diagnosis should be made after all clinical and laboratory findings.

POSITIVE: In addition to the GREEN control band, a RED band (test line) also appears in the site marked with the letter T (result line). This result indicates a recent and contagious infection with HAV.

INVALID: A total absence of the control coloured band (GREEN) regardless the appearance or not of the result line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigens in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. A green line appearing in the control region (C) is an internal control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of stool sample could cause wrong results (brown bands appear).
3. After one month of infection, the number of viruses in feces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples should be collected previously to the onset of symptoms to stop the spread of viruses.
4. This test provides a presumptive diagnosis for Hepatitis A virus infections. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

EXPECTED VALUES

Negative results are expected in healthy infants and young children, also in healthy adults.

PERFORMANCE

Sensitivity and specificity

It was studied some stool samples from patients with the same hepatitis A symptoms: fever, diarrhoea and dark-colored urine and some patients with jaundice. All samples were confirmed as positive results by HAV-Antigen EIA assay (Mediagnost®). It was performed an evaluation using CerTest HAV and the results showed >99% of sensitivity and >99% of specificity. The antibodies used to elaborate this test recognise epitopes present in antigens found in stool patients.

REFERENCES

1. COULEPIS, A. et al. "Detection of Hepatitis A Virus and Antibody by Solid-Phase Radioimmunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with monoclonal antibodies". *Journal of Clinical Microbiology*, July 1985, Vol. 22, No. 1, p. 119-124.
2. BOROVEC, S. et al. "Synthesis and Assembly of Hepatitis A Virus-Specific Proteins in BS-C-1 Cells". *Journal of Virology*. June 1993, Vol. 67, No.6, p. 3095-3102.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	In vitro diagnostic device		Lot code
	Consult instructions for use		Catalogue number
	Keep dry		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Manufacturer
	Use by		Sample diluent

C/María de Luna 11, nave 16
E-50018 Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es



USO PREVISTO

CerTest HAV es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa del virus de Hepatitis A en muestra de heces.

INTRODUCCIÓN

La Hepatitis A es una infección hepática provocada por el virus de la Hepatitis A (HAV). Este virus se propaga cuando una persona no infectada (ni vacunada) come o bebe algo contaminado con material fecal proveniente de una persona infectada por HAV, esta forma de transmisión es la llamada feco-oral. Los síntomas de hepatitis A van desde rango medio a severo, y pueden incluir fiebre, malestar, pérdida de apetito, diarrea, náuseas, molestias abdominales, orina ennegrecida e ictericia (coloración amarilla de la piel y zona blanca de los ojos). No todas las personas que se infectan mostrarán los síntomas. Los adultos presentan más a menudo signos y síntomas de enfermedad que los niños, y la gravedad y mortalidad aumenta en grupos de mayor edad. Los niños infectados menores de seis años normalmente no presentan síntomas graves, y únicamente el 10% presenta ictericia. En la mayoría de los adolescentes y adultos, esta infección normalmente provoca síntomas más graves, con ictericia en el 70% de los casos. La mayoría de las personas se recuperan en varias semanas- o en ocasiones meses sin que aparezcan complicaciones.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest HAV es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación del virus de Hepatitis A en muestras de heces. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-Hepatitis A -microesferas rojas) previamente secados en el test. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test. Para dar el resultado como positivo, una línea de color ROJO aparecerá en la zona de resultados de la membrana. La ausencia de esta línea sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no del virus Hepatitis A, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color VERDE (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4 °C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- (1) Desenroscar el taponcillo y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces, si la muestra fuera líquida se tomarán 100 µL de la misma con una pipeta, introducir la muestra en el tubo para dilución.
- (2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



MATERIALES SUMINISTRADOS

- Dispositivos de reacción (CerTest HAV)
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con diluyente para muestra

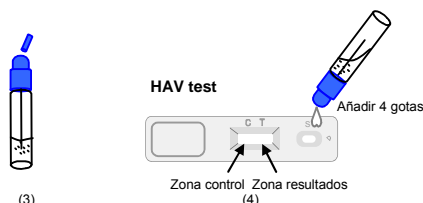
MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de muestra de heces
- Guantes desechables
- Cronómetro

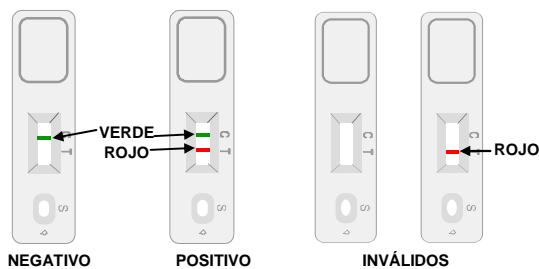
PROCEDIMIENTO

Previamente el dispositivo, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (3).
2. Sacar el dispositivo de reacción CerTest HAV de su envase para utilizarlo inmediatamente.
3. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Tomar 4 gotas o 100 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el dispositivo (4).
4. Leer el resultado a los **15 minutos** (las líneas coloreadas aparecen).



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control). Un resultado negativo indica que no hay infección de HAV. Se debe hacer un diagnóstico confirmatorio para determinar este resultado tras valorar los hallazgos clínicos y de laboratorio.

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de resultado) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado). Este resultado indica que existe una infección reciente y contagiosa de hepatitis A.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea roja en la zona de resultado puede variar dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico.
3. Después de un mes de infección la presencia de virus eliminados en heces disminuye considerablemente haciendo la muestra menos reactiva. La toma de muestra de heces es conveniente realizarla antes de la aparición de los síntomas para evitar propagación del virus.
4. Esta prueba diagnóstica una posible infección por el virus de Hepatitis A, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

VALORES PREVISTOS

Se esperan resultados negativos en niños y jóvenes sanos, así como en adultos libres de infección.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Se estudiaron algunas muestras de heces a partir de pacientes con los mismos síntomas de hepatitis A: fiebre, diarrea y orina oscurificada y también algunos pacientes con ictericia. Todas las muestras fueron confirmadas como positivas por el ensayo HAV-Antigen EIA (Mediagnost®). A su vez se llevo a cabo la evaluación del test CerTest HAV y los resultados mostraron >99% de sensibilidad y >99% de especificidad.

Los anticuerpos usados para la elaboración de este test reconocen epítomos presentes en antígenos que se encuentran en las heces de los pacientes evaluados.

BIBLIOGRAFÍA

1. COULEPIS, A. et al. "Detection of Hepatitis A Virus and Antibody by Solid-Phase Radioimmunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with monoclonal antibodies". *Journal of Clinical Microbiology*, July 1985, Vol. 22, No. 1, p. 119-124.
2. BOROVEC, S. et al. "Synthesis and Assembly of Hepatitis A Virus-Specific Proteins in BS-C-1 Cells". *Journal of Virology*, June 1993, Vol. 67, No. 6, p. 3095-3102.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Número de lote
	Consultar las instrucciones de uso		Número de referencia
	Almacenar en lugar seco		Contiene <n> test
	Limitación de temperatura		Fabricante
	Fecha de caducidad		Diluyente para muestra