

---

# CERTEST HAV

---

ONE STEP *Hepatitis A* virus  
CARD TEST

---

CERTEST BIOTEC S.L.

---



For Information Only

For Information Purposes Only





# CERTEST HAV

One Step test to detect Hepatitis A virus in card format/  
Prueba de un solo paso para detección del virus de Hepatitis A en formato cassette

## ENGLISH

### INTENDED USE

CerTest HAV one step card test is a coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Hepatitis A* virus in stool samples. CerTest HAV card test offers a simple and a highly sensitive screening assay to make a presumptive diagnosis of *Hepatitis A* virus infection.

### 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-coloured 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.

### TEST PRINCIPLE

CerTest HAV is based on the principle of a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Hepatitis A* virus in stool samples. The strip consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Hepatitis A* virus and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-HAV) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming coloured conjugate complexes.

If the sample is positive, the antigens of the sample react with the red-coloured conjugate complex (anti-HAV monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres), which was previously pre-dried on the absorbent pad. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-HAV antibodies present on the membrane (test line) capture the coloured conjugate and the red line will be visible. This band is used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no HAV antigens presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with the red-coloured conjugate complex. The anti-HAV antibodies present on the membrane (test line) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red line will not appear.

Whether the sample is positive or not, the mixture continues to move across the membrane to the immobilized specific antibodies placed in the control line. The anti-specific protein antibodies present on the membrane will capture control green-conjugate complex and the control line will always appear. The presence of this green line serves as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.

### STORAGE AND STABILITY

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

### PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provide in the kit are approved for use in the CerTest HAV test. Do not use any other commercial kit component.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.

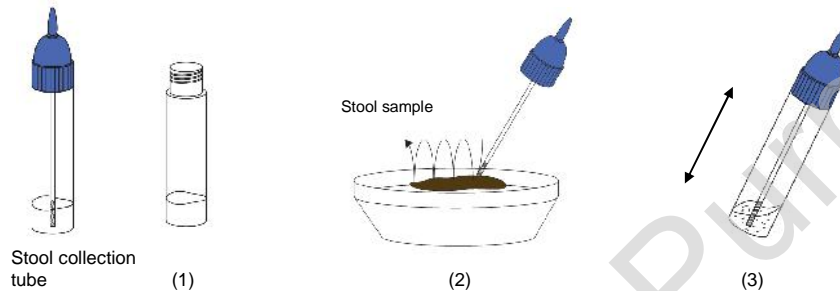


## SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8°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. Homogenise stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

### Specimen preparation (see illustration):

1. Take out the cap of the stool collection tube (1) and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample (2), to collect faecal sample (approx. 125mg) and add it to the stool collection tube. For liquid samples, add approx. 125µL in the stool collection tube using a micropipette.
2. Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).



## MATERIALS

### MATERIALS PROVIDED

- CerTest HAV card tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes with diluent

### MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

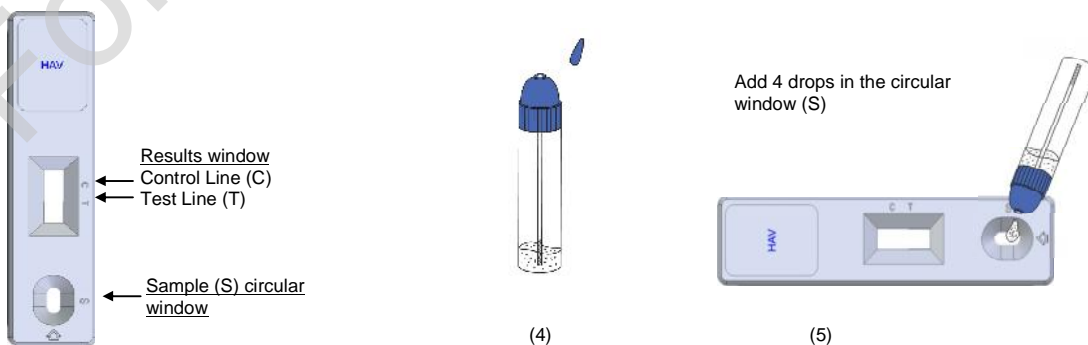
- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

## TEST PROCEDURE

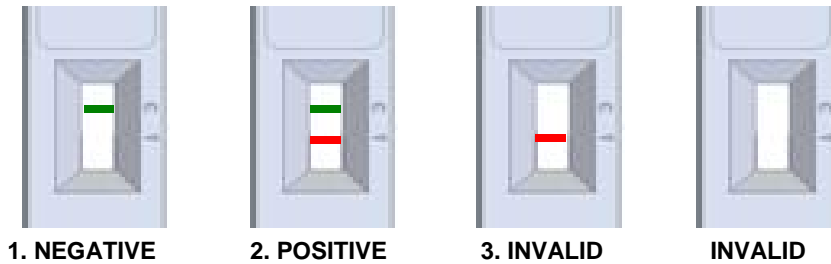
Allow tests, stool samples and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion.
2. Remove the CerTest HAV card test from its sealed bag just before using it.
3. Take the stool collection tube, cut the end of the cap (4) and dispense 4 drops in the circular window marked with the letter S (5). Avoid adding solid particles with the liquid.
4. **Read the results at 15 minutes.** Do not read the result later than 15 minutes.

If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.



## INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



	HAV	Interpretation of the results
1.	- GREEN	There is no HAV presence. No viral infection caused by HAV.
2.	+ GREEN-RED	
3.	Any other result	Invalid result, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.

**NEGATIVE:** Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).

**POSITIVE:** In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

**INVALID:** Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persist, 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 test line (T) in the results window will vary depending on the concentration of antigens present 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 control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

### LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
2. An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the diluent and repeat the test.
3. The intensity of test line may vary from very strong at high antigens concentration to faint when the antigens concentration is close to the detection limit value of the test.
4. After one month of infection, the number of viruses in faeces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples should be collected previously to the onset of symptoms to stop the spread of viruses.
5. CerTest HAV should be used only with samples from human faeces. The use of other samples has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper faecal specimens must be obtained.
6. Positive results determine the presence of *Hepatitis A* virus in faecal samples; nevertheless, a positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results. A confirmed infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
7. A negative result is not meaningful because of it is possible the antigens concentration in the stool sample is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation still persist, a *Hepatitis A* virus determination should be carried out with another technique.



# CERTEST HAV

One Step test to detect Hepatitis A virus in card format/  
Prueba de un solo paso para detección del virus de Hepatitis A en formato cassette

## EXPECTED VALUES

The severity of acute HAV infections is proportional to the age of the patient, with younger patients tending to have milder disease than the elderly. Indeed, overall mortality rates are only 0.1% in the general population as opposed to 1–2% in the elderly. *Hepatitis A* infections do not progress to chronic liver disease (defined as hepatitis persisting beyond 6 months). Rarely, when the acute hepatitis is severe, patients may develop cholestasis (manifest by pruritus) which can persist for as long as 1 year following the initial injury.

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

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### Clinical sensitivity and specificity

An evaluation, with faecal samples, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (CerTest HAV, CerTest) and another commercial HAV immunoassay (HAV-Antigen EIA, Mediagnost®). The results were as follows:

		HAV-Antigen EIA		
		+	-	Total
IC test: CerTest HAV	+	2	0	2
	-	0	24	24
	Total	2	24	26

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest HAV vs HAV-Antigen EIA	>99%	>99%	>99%	>99%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect HAV using CerTest HAV.

### Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of CerTest HAV; no cross reactivity against gastrointestinal pathogens occasionally present in faeces:

*Adenovirus*  
*Astrovirus*  
*Enterovirus*

*Norovirus*  
*Rotavirus*



**ESPAÑOL****USO PREVISTO**

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

CerTest HAV card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de infección por el virus de *Hepatitis A*.

**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. Lo 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 detección del virus de *Hepatitis A* en muestras de heces.

La membrana de nitrocelulosa ha sido fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a HAV en la línea de test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a HAV) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-HAV-microesferas rojas de látex) el cual ha sido secado previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti- HAV presentes en la membrana (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá. Esta línea se utilizará para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígenos de HAV o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-HAV presentes en la membrana (línea de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá. La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido 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 el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

**PRECAUCIONES**

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar 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. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.



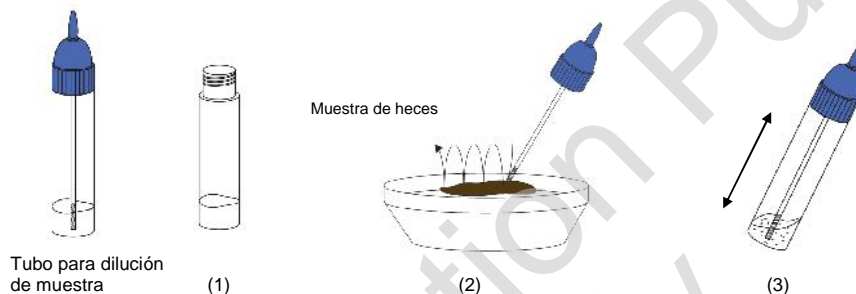
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest HAV test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

## RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C), durante 1-2 días, 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. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

### Preparación de la muestra (ver dibujo):

1. Abrir el tubo para dilución de muestra (1) y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (2), tomando una cantidad de heces (aprox. 125mg) y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución. Para muestras líquidas, añada aprox. 125µL en el tubo para dilución utilizando una micropipeta.
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).



## MATERIALES

### MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest HAV card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

### MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

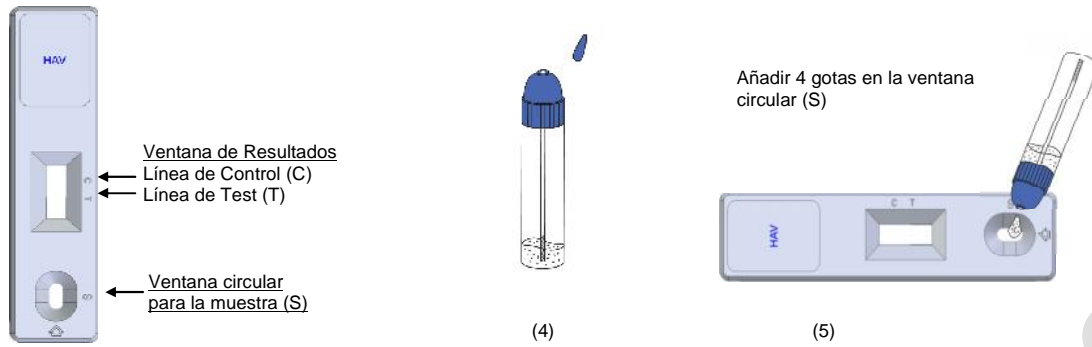
## PROCEDIMIENTO

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

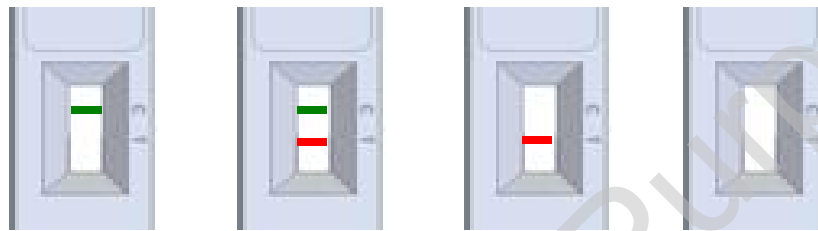
1. Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar el test CerTest HAV de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (4) y añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra S (5), evitando añadir partículas sólidas con el líquido.
4. **Leer el resultado a los 15 minutos.** No leer el resultado superados los 15 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.





## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (Por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



1. NEGATIVO      2. POSITIVO      3. INVÁLIDO      INVÁLIDO

	HAV	Interpretación de resultados
1.	-	No hay presencia de HAV. No hay infección causada por HAV.
	VERDE	
2.	+	Hay presencia de HAV. Infección vírica causada por HAV.
	VERDE-ROJO	
3.	Cualquier otro resultado	Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

**NEGATIVO:** Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados del test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

**POSITIVO:** Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.

**INVÁLIDO:** Cuando la línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen 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 test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

### OBSERVACIONES

La intensidad de la línea de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

### CONTROL DE CALIDAD

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



# CERTEST HAV

One Step test to detect Hepatitis A virus in card format/  
Prueba de un solo paso para detección del virus de Hepatitis A en formato cassette

## LIMITACIONES

- Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
- Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea del test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.
- 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.
- CerTest HAV debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
- Los resultados positivos determinan la presencia del virus de *Hepatitis A* en muestras de heces; sin embargo, un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio para confirmar los resultados. La infección debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.
- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, la determinación del virus de *Hepatitis A* se debería realizar con otra técnica.

## VALORES ESPERADOS

La gravedad de las infecciones agudas de HAV es proporcional a la edad del paciente, los pacientes más jóvenes tienden a tener la enfermedad más leve que las personas mayores. De hecho, las tasas de mortalidad generales son sólo el 0,1% en la población general a diferencia del 1-2% en los ancianos. Las infecciones de *Hepatitis A* no llegan a progresar a enfermedad hepática crónica (definida como la hepatitis persistente más allá de 6 meses). En raras ocasiones, cuando la hepatitis es aguda severa, los pacientes pueden desarrollar colestasis (se manifiesta con prurito) que puede persistir durante el tiempo de 1 año después de la lesión inicial.

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

## CARACTERÍSTICAS DEL TEST

### Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, comparando los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico (CerTest HAV, CerTest) y otro inmunoensayo comercializado (HAV-Antigen EIA, Mediagnost®). Los resultados se muestran a continuación:

		HAV-Antigen EIA		
		+	-	Total
IC test: CerTest HAV	+	2	0	2
	-	0	24	24
	Total	2	24	26

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest HAV vs HAV-Antigen EIA	>99%	>99%	>99%	>99%

Los resultados mostraron que CerTest HAV presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar HAV.





# CERTEST HAV

One Step test to detect Hepatitis A virus in card format/  
Prueba de un solo paso para detección del virus de Hepatitis A en formato cassette

## Reacciones cruzadas










Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de CerTest HAV; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Adenovirus</i>	<i>Norovirus</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Rotavirus</i>
<i>Enterovirus</i>	

## REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

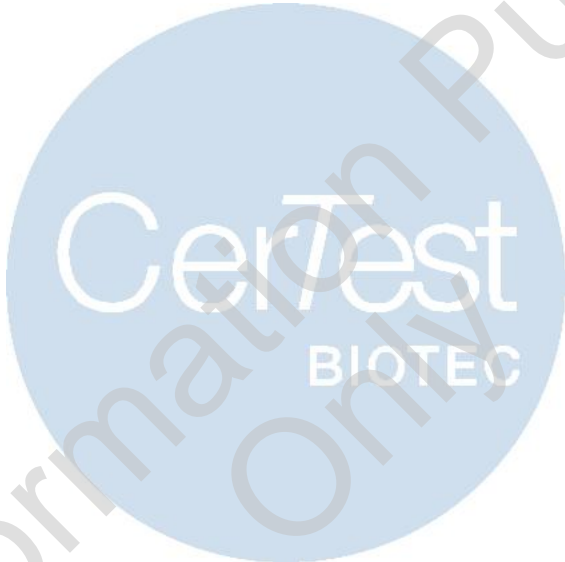
1. COULEPIS, A. et al. "Detection of *Hepatitis A Virus* and Antibody by Solid-Phase Radioimmunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with monoclonal antibodies". *Journal of Clinical Microbiology*, July 1985, Vol. 22, No. 1, p. 119-124.
2. BOROVEC, S. et al. "Synthesis and Assembly of *Hepatitis A Virus*-Specific Proteins in BS-C-1 Cells". *Journal of Virology*. June 1993, Vol. 67, No.6, p. 3095-3102.
3. G. Y. MINUK, A. J. COHEN, N. ASSY & M. MOSER. "Viral hepatitis and the surgeon". *Liver Diseases Unit, Departments of Medicine, Surgery and Pharmacology, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada*, 2005, p. 56-64.

## SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

 <b>IVD</b> <i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 <b>LOT</b> Batch code Número de lote
 Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	<b>DIL</b> Sample diluent Diluyente de muestra	 <b>REF</b> Catalogue number Número de referencia



For Information Only Purposes



**CerTest**  
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,  
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)  
[www.certest.es](http://www.certest.es)

