

**Código del producto: IHC02**  
Prueba de tiras del virus de Hepatitis C

## ANTECEDENTES

El virus de la Hepatitis C (VHC) es la principal causa de enfermedad hepática, frecuentemente es progresiva a cirrosis y conlleva un alto riesgo de carcinoma hepatocelular. El VHC es un virus de RNA monocatenario positivo, perteneciente a la familia de flavivirus. Su genoma contiene aproximadamente 10,000 nucleótidos y codifica una proteína sencilla de aproximadamente 3,000 aminoácidos. La poliproteína es procesada por células del huésped y proteasas virales en tres estructuras principales y varias proteínas no estructurales, necesarias para la replicación viral. Se han identificado varios genotipos diferentes del VHC con mínimas diferencias en sus secuencias genómicas, las cuales, se correlacionan con diferencias en respuesta al tratamiento con interferón alfa. Recientemente, se han desarrollado nuevos fármacos antivirales. Estos medicamentos, llamados agentes antivirales directos (AADs) son mucho más efectivos, seguros y mejor tolerados que los tratamientos antiguos.

El VHC se clasifica, genéticamente, en seis distintos genotipos, los cuales se subdividen en al menos 70 subtipos, que difieren en aproximadamente el 30% y 15% a nivel del nucleótido respectivamente. Los diferentes genotipos pueden presentar diferencias en sus propiedades fenotípicas.

Se pueden realizar pruebas de membrana inmunocromatográfica en pocos minutos, los resultados son de lectura visual y su uso es adecuado para laboratorios de limitados recursos. Adicionalmente, aun si no hay tratamiento profiláctico para VHC posterior a una lesión por picadura con aguja, es importante conocer rápidamente el estatus de VHC del paciente afectado.

## PROPÓSITO

La prueba anti-VHC es un inmunoensayo cromatográfico para la detección rápida y cualitativa de anticuerpos generados contra proteínas codificadas por secuencias de núcleo conservadas, NS3, NS4, NS5 porciones del genoma de VHC en sangre entera / suero / plasma humano.

## REACTIVOS

Antígenos recombinantes de VHC (CORE, NS3, NS4, NS5), anti-VHC anticuerpos monoclonales, antígenos VHC recombinantes (CORE, NS3, NS4, NS5) conjugados con partículas de oro coloidal.

## METODOLOGÍA

La prueba Anti-VHC utiliza tecnología inmunocromatográfica de fase sólida para la detección cualitativa de anticuerpos contra antígenos del VHC en sangre entera / suero / plasma humanos. La prueba consiste en un ensayo inmunométrico de dos sitios, en los cuales una combinación de anticuerpos monoclonales y antígenos VHC recombinantes (CORE, NS3, NS4, NS5) se utilizan para detectar selectivamente anticuerpos contra antígenos VHC, de las muestras con un alto grado de sensibilidad. Los antígenos recombinantes VHC incluyendo core, NS3, NS4 y NS5 fueron inmovilizados en el área de prueba "T" y los anticuerpos anti-VHC monoclonales fueron inmovilizados en el área de control "C" de la membrana nitrocelulosa. Los antígenos VHC recombinantes incluyendo core, NS3, NS4 y NS5 fueron conjugados con oro coloidal y secados sobre una placa conjugada. Se introduce la muestra de la almohadilla de muestreo. Si existen anti-VHC en la muestra, los anti-VHC se acoplan a los antígenos VHC recombinantes móviles, conjugados con partículas de oro coloidal. Juntos se mueven al área de prueba "T". El complejo anti-VHC - antígeno VHC recombinante se adhiere a los antígenos VHC recombinante inmovilizados y como resultado, los anti-VHC ligados a los antígenos VHC recombinantes (conjugados con partículas de oro coloidal) se inmovilizan en el área de prueba "T" creando en consecuencia, una señal coloreada visible por la acumulación de partículas de oro coloidal sobre el área de prueba "T" (una línea de prueba coloreada), indicando en la prueba un resultado positivo. Si no hay anti-VHC en la muestra, entonces la muestra se mueve al área de prueba "T" junto con los antígenos VHC recombinantes no unidos (libres) conjugados con partículas de oro coloidal. Los antígenos VHC recombinantes inmovilizados no se pueden unir a los antígenos VHC móviles, conjugados con partículas de oro coloidal, por lo tanto, no se obtiene ninguna señal visible coloreada en el área de prueba "T" (no hay línea de prueba coloreada), indicando que el resultado de la prueba, es negativo. Independientemente del contenido de anti-VHC en la muestra líquida, los antígenos VHC recombinantes móviles conjugados con partículas de oro coloidal, se unen a anticuerpos VHC monoclonales inmovilizados mientras que la muestra líquida esta pasando a través del área de control "C". Por lo tanto, la acumulación de partículas de oro coloidal producen una señal visible coloreada en el área de control "C" (una línea de control coloreada), indicando que el resultado de la prueba es válido. La línea coloreada debe ser visible en el área de control "C" en todos los casos; si no se percibe una línea coloreada en el área de control "C", el resultado de la prueba debería indicarse como inválido.

## LIMITACIONES Y PRECAUCIONES

1. Para uso profesional y diagnóstico *in vitro* únicamente.
2. No se debe utilizar el kit de prueba una vez la fecha de caducidad haya expirado. El dispositivo de la prueba es de un solo uso. No se debe re utilizar.
3. El dispositivo de la prueba debe permanecer sellado en su empaque original hasta que se utilice. No utilice la prueba si el sello está roto o si el empaque está dañado.
4. Utilice guantes desechables mientras realice la prueba.
5. Utilice un gotero nuevo para cada muestra. El gotero de plástico proporcionado en el kit de prueba podría no gotear el volumen de muestra exacto, por lo tanto se debería utilizar una micropipeta.
6. El dispositivo de prueba se debe desechar en un contenedor de material de riesgo biológico, después de haber realizado la prueba.
7. Todas las muestras de los pacientes se deben considerar como muestras con potencial riesgo de transmisión de enfermedades. Observe las precauciones establecidas contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos y siga los procedimientos estándar para el desecho adecuado de las muestras.
8. Esta prueba indicará únicamente la presencia o ausencia de anti-VHC en la muestra y no se debería utilizar como el único fundamento para el diagnóstico de una infección por hepatitis viral. Así como en todas las pruebas diagnósticas, se debe tomar en cuenta que un diagnóstico de identificación no se puede basar en el resultado de una sola prueba. El diagnóstico solo se puede obtener por un experto después de haber evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

## ALMACENAMIENTO

El dispositivo de la prueba se debe mantener fuera del contacto directo con la luz del sol, humedad, calor y fuentes de radiación. Almacenar a 4 - 30°C (39 - 86°F). No congelar.

Dentro de su empaque original, la prueba se mantiene estable hasta su fecha de caducidad bajo las condiciones de almacenamiento descritas previamente. El dispositivo de la prueba se debe de utilizar máximo una hora después de haber abierto la envoltura.

**Componentes del kit:** Placas de prueba, goteros, diluyentes e instructivo.

**Materiales requeridos adicionalmente pero no proporcionados:** Tubo de recolección de muestra, centrífuga y segundero.

**Materiales recomendados adicionales pero no proporcionados:** Micropipetas, para el cumplimiento del volumen de muestra en el procedimiento de la prueba, materiales de control positivo y negativos.

## TOMA DE LA MUESTRA Y PREPARACIÓN

La prueba se puede realizar utilizando sangre entera, suero o plasma. Para evitar hemólisis, el suero o plasma se debe separar de la sangre lo antes posible.

**Para muestras de sangre entera:** La prueba se debe realizar inmediatamente en muestras de sangre entera. De otra manera, las muestras de sangre entera se deben almacenar a 2 - 8 °C con anticoagulantes (deberían usarse EDTA, heparina, citrato) para evitar la coagulación hasta que se vayan a probar en un periodo de 2 días posteriores a la recolección.

**Para muestras de suero:** Recolectar sangre en un tubo de recolección sin anticoagulantes, dejar asentar por 30 minutos para la coagulación sanguínea y luego centrifugar la sangre. Al final del centrifugado, el remanente flotante se utiliza como suero. (Tiempo y velocidad de la centrifugación: 2300-2880 x g por ~ 10 min)

**Para muestras de plasma:** Recolectar sangre en un tubo de recolección con anticoagulantes (Se deberían utilizar EDTA, heparina, citrato) para evitar la coagulación sanguínea de la muestra y luego centrifugar la sangre. Al final del centrifugado, el remanente flotante se utiliza como plasma. (Tiempo y velocidad de la centrifugación: 2300-2880 x g por ~ 10 min)

No utilice muestras turbias ni hemolizadas. Si la muestra no se puede someter a la prueba el mismo día de su recolección, almacene las muestras de suero, plasma en un refrigerador o congelador. No congele y descongele las muestras de suero, plasma repetidamente. No congele las muestras de sangre entera. Antes de someter a prueba, las muestras deben estar a temperatura ambiente. Las muestras congeladas deben estar completamente descongeladas y bien mezcladas previamente a la prueba. Las muestras de prueba turbias deben centrifugarse. Evitar el uso de muestras congeladas y descongeladas lo máximo posible, por el bloqueo de la membrana por los remanentes.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Llevar a temperatura ambiente las pruebas y muestras de sangre entera/suero/plasma. Sacar la prueba de su envoltura.
- Para muestras de sangre entera:** Extraer sangre entera y colocar 2 gotas (60 µl) en el pocillo de muestra de la placa. Inmediatamente después, son agregadas 2 gotas de diluyente en el pocillo de la muestra y permitirle remojarse.  
**Para muestras de suero / plasma:** Extraer suero / plasma y colocar 1 gota (30 µl) en el pocillo de muestra de la placa. Inmediatamente después, son agregadas 2 gotas de diluyente en el pocillo de la muestra y permitirle remojarse.  
Evite la formación de burbujas de aire.
- Dependiendo de la concentración de anti-VHC de la muestra, la prueba puede hacer reacción hasta en 5 minutos. Los resultados deben interpretarse a los 15 minutos como se muestra abajo. No interprete los resultados pasados 20 minutos. Los resultados obtenidos después de 20 minutos deben considerarse inválidos.

\*Se recomienda ampliamente el uso de micropipeta\*

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

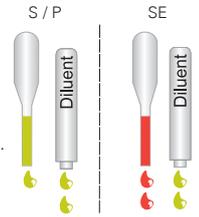
**Negativo:** Solo se muestra una línea coloreada en el área "C", indicando que no existen anticuerpos de hepatitis C.

**Positivo:** Se muestran dos líneas coloreadas en las áreas "C" y "T", indicando que existen anticuerpos de hepatitis C.

Bajas concentraciones de anticuerpos de Hepatitis C podrían causar una línea tenue en el área "T". Aun así se debe de considerar una línea tenue en el área "T" como "positivo".

**Inválida:** No es visible ninguna línea coloreada o una única línea coloreada es visible en el área "T"; la prueba se debe de repetir utilizando un nuevo dispositivo de prueba.

La mayoría de las razones de los fallos de la línea de control son un volumen insuficiente de muestra o un procedimiento incorrecto de la técnica. Revisar el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de prueba. Si el problema persiste, no siga usando las pruebas del kit y contacte a su distribuidor local.



## CONTROL DE CALIDAD

Las pruebas tienen características de control de calidad incorporadas. Cuando la prueba se ha completado, el usuario verá una línea coloreada en el área "C" en muestras negativas y una línea coloreada en las áreas "T" y "C" en muestras positivas. La aparición de la línea de control "C" se considera un procedimiento de control interno. Esta línea indica que se agregó el suficiente volumen de muestra y también que es un resultado válido de la prueba. Se recomienda que se utilice control negativo y control positivo para verificar el desarrollo apropiado de la prueba como medida de control externo. Los usuarios deben de seguir los lineamientos federales, estatales y locales con respecto a los controles de calidad externos.

## DESARROLLO DE LA EVALUACIÓN

La prueba anti-VHC puede detectar anticuerpos generados contra proteínas que están codificadas por secuencias conservadas en las partes CORE, NS3, NS4, NS5 del genoma de VHC.

Estatus de la muestra	Muestra Anti-VHC Estatus	Tipo de muestra S / P			Tipo de muestra SE		
		Número de estudio	Comparativo Ensayo utilizado	Resultado	Número de estudio	Comparativo Ensayo utilizado	Resultado
Muestras positivas (todos los genotipos disponibles)	Positivo	400	EIA	100 %	413	EIA	100 %
Donadores de sangre	Negativo	1058	EIA	100 %	1011	EIA	100 %
Clínica	Negativo	250	EIA	100 %	210	EIA	100 %
Mujeres embarazadas	Negativo	229	EIA	100 %	212	EIA	100 %
Factor Reumatoideo (FR)	Negativo	150	EIA	100 %	150	EIA	100 %
Anti-HBs	Negativo	20	EIA	100 %	10	EIA	100 %
Bilirrubina	Negativo	10	EIA	100 %	-	-	-
Hemoglobina	Negativo	10	EIA	100 %	-	-	-
Triglicéridos	Negativo	10	EIA	100 %	-	-	-

### Sensibilidad y especificidad

Para muestras de S/P: se utilizan resultados de muestras positivas (400/400), muestras de donadores de sangre negativas (1058/1058) y muestras clínicas (250/250). Usando estos resultados; sensibilidad, especificidad, valores + predictivo, - predictivo se calculan como;

Sensibilidad: 100 % Especificidad: 100 % Valor + Predictivo: 100 % Valor -Predictivo: 100 %

Para muestras de SE: se utilizan resultados de muestras positivas (413/413), muestras de donadores de sangre negativas (1011/1011) y muestras clínicas (210/210). Usando estos resultados; sensibilidad, especificidad, valores + predictivo, - predictivo se calculan como;

Sensibilidad: 100 % Especificidad: 100 % Valor + Predictivo: 100 % Valor -Predictivo: 100 %

**Paneles de seroconversión:** 30 paneles de seroconversión para pruebas Türklab anti-VHC se llevaron a cabo en donde el EIA fue el ensayo de referencia. Todas las 30 seroconversiones fueron apropiadamente detectadas por la prueba Türklab Anti-VHC las cuales reaccionaron positivo mediante la aparición de una línea en el área de control "C" y otra línea en el área de prueba "T" de la muestra en prueba. El ensayo EIA también detectó la seroconversión de todos los 30 paneles. Esta evaluación indica que la Prueba Türklab Anti-VHC ha demostrado un desempeño equivalente en el diagnóstico sensitivo comparado con el marcado CE, ensayo EIA.

**Reacción cruzada:** Se ha probado la reacción cruzada con las muestras abajo mencionadas, no se encontró reacción cruzada en la Prueba Anti-VHC.

- Anti-HBs sangre entera / suero / plasma muestras y Anti-HBs control positivo,
- Sangre entera / suero / plasma muestras de mujeres embarazadas.

**Interferencias:** Se probaron las siguientes substancias consideradas potencialmente interferentes con la Prueba Anti-VHC. Hemoglobina, Bilirrubina, Triglicéridos, Factor Reumatoideo (FR). No se observó interferencia.

No utilice muestras hemolíticas puesto que pueden conducir a resultados falsos o inválidos.

## REFERENCIAS

- WHO, Media Centre, Hepatitis C, Fact Sheet, Updated July 2016.
- Afdhal N, Everson G, Calleja JL, et al. Sofosbuvir and ribavirin for the treatment chronic HCV with cirrhosis and portal hypertension with and without decompensation: early virologic response and safety. Presented at the 49th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, London; April 9-13, 2014. Abstract O68.
- Cell culture-grown hepatitis C virus is infectious in vivo and can be recultured in vitro, Charles M. Rice, December 28, 2005
- Diseases of the Liver, 2002, Howard J. Worman, M. D.
- Characterization of Host-Range and Cell Entry Properties of the Major Genotypes and Subtypes of Hepatitis C Virus, Dimitri Lavillette, Alexander W. Tarr, Cécile Voisset, Peggy Donot, Birke Bartosch, Christine Bain, Arvind H. Patel, Jean Dubuisson, Jonathan K. Ball, and Francis-Loïc Cosset, HEPATOLOGY 2005;41:265-274
- Sensitivity of a rapid immuno-chromatographic test for Hepatitis C antibodies detection, Daniel et al., 2005.

