



Anti-HAV Elisa

KAPG4AGE3

History

Summary of change :

Previous Version :				Current Version :			
110628/2				200224/1			
4.1. Storage Conditions and Stability of Kit and Components *				4.1 Storage Conditions and Stability of Kit and Components *			
Concentrated Washing Solution D (20x)	+2 to 8 °C	Original	24 months	Concentrated Washing Solution D (20x)	Room temp.	Original	24 months
		Once open	1 month			Once open	1 month
No IVD symbol				IVD symbol added			
Old DIAsource logo				New DIAsource logo			
LOT				Version			
No Manufacturer symbol				Manufacturer symbol added			
Multilanguage IFU				Addition of the following sentence at the end of the English IFU: "Other translations of this Instructions for Use can be downloaded from our website: https://www.diasource-diagnostics.com/ "			



Anti-HAV Elisa

en

For qualitative in-vitro detection of antibodies to hepatitis A virus
(Anti-HAV) in human serum or plasma

KAPG4AGE3

IN VITRO DIAGNOSTIC USE

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. INTENDED USE

Anti-HAV Elisa is an enzyme immunoassay for in vitro qualitative detection of antibody to hepatitis A virus (Anti-HAV) in human serum or plasma (heparin, EDTA or citrate).

2. SUMMARY AND TEST EXPLANATION

The hepatitis A virus (HAV) is a single-stranded RNA-containing virus without an envelope and with a diameter of 27 nm that belongs to the family of Picornaviridae ^{*1}. Hepatitis A - the most common form of acute viral hepatitis - is an infection of fecal-oral transmission produced in humans after an average incubation period of 28 days (range, 15-50 days). The illness caused by HAV infection typically has an abrupt onset of symptoms that can include fever, malaise, anorexia, nausea, abdominal discomfort, dark urine, and jaundice ^{*2}.

Total anti-HAV and especially IgM anti-HAV is positive at the onset of a hepatitis A infection. After natural infection, anti-HAV-IgG antibodies can usually be detected for a lifetime providing protection against the disease ^{*3-4}. The detection of anti-HAV is indicative of current immunity and helps in deciding whether active immunization should be supplied by vaccination or immunoglobulins should be administered for post-exposure prophylaxis in at-risk situations ^{*5-6}.

Anti-HAV Elisa is a fast test for the qualitative detection of antibodies to Hepatitis A virus in serum or plasma (heparin, citrate or EDTA) specimens. This is an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) which utilizes HAV Ag on microtiter wells and human Peroxidase-conjugated Anti-HAV in a competition principle to detect Anti-HAV levels in serum or plasma.

Specimens with absorbance values greater than the Cutoff Value are considered **NONREACTIVE** for Anti-HAV

Specimens with absorbance values lower or equal than the Cutoff Value are considered **REACTIVE** for Anti-HAV.

The test has to be repeated in duplicate for specimens with absorbance value within the retest range (Cutoff Value \pm 10 %) and interpreted as above.

If the absorbance of any of the specimens retested in duplicate is still within the retest range, it is suggested to test follow-up samples of the patient.

3. TEST DESCRIPTION

Anti-HAV Elisa is a solid-phase enzyme immunoassay (ELISA= enzyme-linked immunosorbent assay) based on a competitive principle. The solid phase of the microtiter plate is made of polystyrene wells coated with HAV Ag and the liquid phase of human Peroxidase conjugated Anti-HAV.

When a serum or plasma specimen containing Anti-HAV is added to the HAV Ag-coated wells together with the human Peroxidase conjugated Anti-HAV and incubated, a competition will take place for the binding to the HAV Ag on the wells. (HAV Ag)-(Anti-HAV • Peroxidase) complex and/or (HAV Ag)-(Anti-HAV) complex will form on the wells.

After washing the microtiter plate to remove unbound material, a solution of TMB substrate is added to the wells and incubated.

Due to the competitive principle a color develops inversely proportional to the amount of Anti-HAV bound to HAV Ag deriving from the specimen. The Peroxidase-TMB reaction is stopped by addition of sulfuric acid. The optical density of developed color is read with a suitable photometer at 450 nm with a selected reference wavelength within 620 to 690 nm^{*7}.

A Specimen containing Anti-HAV:


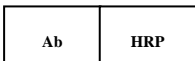


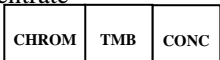
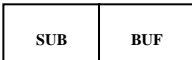


1. Plate well (HAV Ag) + specimen (Anti-HAV) + Anti-HAV·Peroxidase
→ Plate-HAV Ag-Anti-HAV complex and/or Plate-HAV Ag-Anti-HAV·Peroxidase complex
2. Washing to remove unbound material
3. Add TMB substrate solution → blue color to light pale blue color/even colorless
4. Add 2N sulfuric acid to stop the color development → Read OD at 450nm with a selected reference wavelength within 620 to 690nm^{*7}

B Specimen without Anti-HAV:

1. Plate well (HAV Ag) + specimen (without Anti-HAV) + Anti-HAV·Peroxidase
→ Plate-HAV Ag-Anti-HAV·Peroxidase complex
2. Washing to remove unbound material
3. Add TMB substrate solution → colorless to blue color
4. Add 2N sulfuric acid to stop the color development, read OD at 450nm with a selected reference wavelength within 620 to 690nm^{*7}

4. DESCRIPTION OF MATERIALS PROVIDED

- **Storage Conditions:** Item 1 - 6 on the following reagent table should be refrigerated at +2 to 8+ °C and the others stored at room temperature (+20 to +30 °C).

ITEMS	Components	Description	Qt. per 96 tests
(1)	HAV Ag Plate 	Microtiter Plate Coated with HAV Antigen.	1 plate
(2)	Anti-HAV Peroxidase Solution 	Anti-HAV (mouse monoclonal) Peroxidase (horseradish) conjugate dissolved in buffer with protein stabilizers. Preservatives: 0.01% Thimerosal and 0.003% Gentamycin.	1 bottle, 12 ml
(3)	Anti-HAV Positive Control 	Human plasma positive for antibody to HAV in buffer with protein stabilizers. Preservatives: 0.01% Thimerosal and 0.003% Gentamycin.	1 bottle, 1 ml
(4)	HA Negative Control 	Human plasma non-reactive for antibody to HAV with protein stabilizers. Preservatives: 0.01% Thimerosal and 0.003% Gentamycin.	1 bottle, 1 ml
(5)	Chromogenic TMB concentrate 	0.6 mg/ml of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) in an organic base.	1 bottle, 12 ml
(6)	Substrate buffer 	Citric Acid Buffer containing 0.03% H ₂ O ₂ .	1 bottle, 12 ml
(7)	Conc. Washing Solution D (20X) 	Concentrated phosphate buffer with Tween-20.	1 bottle 58 ml
(8)	Stop Solution 	2N H ₂ SO ₄ (Sulfuric Acid)	1 bottle 12 ml

● OTHER MATERIALS AND DEVICES REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

ITEMS	Components
(1)	10µl, 100µl and 1.0 ml micropipettes and tips are needed
(2)	Incubator or waterbath with temperature control at +37 °C.
(3)	Plate washing equipment.
(4)	ELISA microwell reader: Dual wavelength 450nm with 620-690nm as reference wavelength ^{*7} , bandwidth 10nm
(5)	Purified water: distilled or deionized water.
(6)	Fully automatic EIA micro-plate analyzer is optional. User should validate the automatic EIA micro-plate analyzer in combination with the kit.

4.1.

Storage Conditions and Stability of Kit and Components *

Kit/Components	Storage condition	State	Stability
Anti-HAV Elisa KIT	+2 to 8 °C	Original	15 months
		Once open	1 month
Anti-HAV Positive Control	+2 to 8 °C	Original	15 months
		Once open	1 month
HA Negative Control	+2 to 8 °C	Original	15 months
		Once open	1 month
HAV Ag Plate	+2 to 8 °C	Original	15 months
		Once open	2 months
Anti-HAV·Peroxidase Conjugate Solution	+2 to 8 °C	Original	15 months
		Once open	1 month
Concentrated Washing Solution D (20x)	Room temp.	Original	24 months
		Once open	1 month
20x Diluted Washing Solution	Room temp.	Diluted	2 days
	+2 to 8 °C	Diluted	1 week
Chromogenic TMB concentrate	+2 to 8 °C	Original	24 months
		Once open	1 month
Substrate buffer	+2 to 8 °C	Original	24 months
		Once open	1 month
2N Sulfuric Acid	Room temp.	Original	24 months
		Once open	1 month

5. INSTRUCTIONS FOR USE

5.1. Warnings

- 5.1.1. This reagent kit is for professional use only.
- 5.1.2. This reagent kit is for in vitro diagnostic use only.
- 5.1.3. Bring all kit reagents and samples to room temperature (+20 to +30°C) and mix gently before use.
- 5.1.4. Do not use reagent beyond its expiration date.
- 5.1.5. Do not interchange reagents between different lots.
- 5.1.6. Do not pipette in the mouth.
- 5.1.7. Do not smoke or eat in areas where specimens or reagents are handled.
- 5.1.8. The positive control, negative control, conjugate solution and specimens should be regarded as potential hazards to health. They shall be used and discarded according to the user's laboratory safety procedures. Such safety procedures probably shall include wearing protective gloves and avoiding aerosols generation.
- 5.1.9. Potential infectious specimens and nonacid containing spills or leakages should be wiped up thoroughly with 5% sodium hypochlorite or treated in accordance with the laboratory's practice for potential bio-hazard control.
- 5.1.10. **Prior to dispose the waste of used specimens and kit reagents as general waste, it should be treated in accordance with the local procedures for potential bio-hazardous waste or treated as follows:**
Both liquid and solid waste should be autoclaved maintaining +121 °C for at least 30 minutes.
Solid waste can also be incinerated.
Non-acidic liquid waste can be treated with sodium hypochlorite diluted to a final concentration of 1%.
Acidic liquid wastes must be neutralized before treatment with sodium hypochlorite as mentioned above and should stand for 30 minutes to obtain effective disinfection.
- 5.1.11. 2N sulfuric acid is an irritant to skin, eyes, respiratory tract and mucous membranes. Avoid contact of the 2N sulfuric acid with skin and mucous membranes. In case of contact, clean with large lots of water immediately. In case of inhalation, supply fresh air and seek medical advice in case of complaints.
- 5.1.12. Chromogenic TMB concentrate contains methanol, which is flammable (and toxic, depends on the concentration). Chromogenic TMB concentrate contains dimethyl sulfoxide, an irritant to skin and mucous membranes.

5.2. Specimen Collection and Preparation for Analysis

- 5.2.1. No special preparation of the patient is required prior to blood collection. Blood should be collected by approved medical techniques.
- 5.2.2. Either serum or plasma can be used with this diagnostic kit. Whole blood specimens should be separated as soon as possible in order to avoid hemolysis. Any particulates (e.g. fibrin clots, erythrocytes) contained in the specimen should be removed prior to use.
- 5.2.3. Specimens must be stored at +2 to +8 °C and avoided heat-inactivation to minimize deterioration. For long-term storage, they should be frozen below -20 °C. Storage in self-defrosting freezer is not recommended.
- 5.2.4. Frozen specimens must be thoroughly thawed and mixed homogeneously before test.
- 5.2.5. Avoid multiple freeze-thaw procedures
- 5.2.6.

WARNING 1. The specimen must not contain any compounds of AZIDE, which inhibits the peroxidase activity.
2. Incompletely coagulated serum samples and microbial-contaminated specimens should not be used.

5.3. Reagents storage

- 5.3.1. The kit must be stored at +2 to +8°C. Do not freeze.
- 5.3.2. Strips of the plate should be used within 1 month after open the original aluminum foil bag. The unused strips should be kept in the aluminum foil bag and taped the opening tightly.
- 5.3.3. Return the reagents to +2 to +8 °C immediately after use.
- 5.3.4. Washing Solution D (20x) Concentrate should be stored at room temperature to avoid crystallization. If the crystal has been precipitated before use, warm up the solution in a +37 °C water bath till the crystal is dissolved.

5.4. Plate washing procedure

- 5.4.1. Preparation of washing solution:
Dilute Washing Solution D (20x) Concentrate with distilled or de-ionized water to 1:20 dilution. Do not use tap water.
- 5.4.2. Plate washing:
Any commercial automatic micro-plate washer or other liquid aspirating/ dispensing devices can be used for washing purpose. The user should test the devices to determine the proper volume of water and wash cycles to insure proper washing.
It is suggested to wash 6 cycles with at least 350µl washing buffer per well per wash and soaking at least for 10 seconds.
- 5.4.3. Blot dry by inverting the plate and tapping firmly onto absorbent paper. Too much residual wash buffer will cause false results.

WARNING Improper washing will cause false results.

5.5. Test procedure

Assay process can be performed by an automatic EIA micro-plate immunoanalyzer,. Please set up the program according to the following test procedure.

5.5.1. Bring all reagents and specimens to room temperature (+20 to +30°C) before assay. Adjust water bath or incubator to +37±1°C.

5.5.2. Prepare the needed number of wells, including 2 wells for blanks, 3 wells for Negative Control, 2 wells for Positive Control, and one well for each specimen.

Reserve 2 wells for blanks (**Do not add any specimen or conjugate**).

Add 10µl of each control or specimen to the appropriate wells of HAV Ag coated plate, except the 2 blanks.

NOTE:

- a. Use a new pipette tip for each sampling to avoid cross-contamination
- b. Each plate needs its own negative controls, positive controls and blank wells.
- c. Do not use cut-off values established for other plates of Anti-HAV Elisa.

5.5.3. Add 100µl of Anti-HAV·Peroxidase solution to each of the above wells except the 2 blanks.

Note: Do not touch the cuvette wall for preventing contamination.

5.5.4. Gently tap the plate.

5.5.5. Seal the plate with an adhesive slip.

5.5.6. Incubate the reaction plate in +37±1 °C water bath or incubator for **one hour**.

5.5.7. At the end of the incubation period, remove and discard the adhesive slip and wash the plate in accordance with **5.4) Plate washing procedure**.

5.5.8. Choose one of the following two methods for color development:

NOTE: Chromogenic TMB concentrate should be colorless to light blue, otherwise, it should be discarded. The mixture of Chromogenic TMB concentrate and Substrate buffer should be used within 30 minutes after mixing. The mixture should be avoided from intense light.

A. Mix equal volumes of Chromogenic TMB concentrate and Substrate buffer in a clean container immediately prior to use. Add 100 µl of the mixture solution to each well including the 2 blank wells.

B. Add 50µl of Chromogenic TMB concentrate first, then add 50µl of Substrate buffer into each well including the 2 blanks. Mix well gently.

5.5.9. Cover the plate with black cover and incubate at room temperature for 30 minutes.

5.5.10. Stop the reaction by adding 100 µl of stop solution to each well including the blank.

5.5.11. Determine the absorbance of controls and test specimens within 15 minutes with a photometer at 450nm with a selected reference wavelength within 620 to 690nm^{*7}.

Use the blank well to blank the photometer.

NOTE: The color of the blank should be colorless to light yellowish; otherwise, the test result is invalid. In this case the test must be repeated.

Substrate blank : absorbance value must be less than 0.100.

5.6.	Calculation of Test Results								
5.6.1.	<p>Calculation of the NCx (Mean Absorbance of Negative Control).</p> <p>Example:</p> <table style="margin-left: 40px;"> <thead> <tr> <th>Sample No.</th> <th>Absorbance</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>1.263</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>1.305</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>1.290</td> </tr> </tbody> </table> <p style="margin-left: 40px;">$NCx = (1.263 + 1.305 + 1.290)/3 = 1.286$</p> <p>NCx must be ≥ 0.4, otherwise, the test is invalid.</p>	Sample No.	Absorbance	1	1.263	2	1.305	3	1.290
Sample No.	Absorbance								
1	1.263								
2	1.305								
3	1.290								
5.6.2.	<p>Calculation of PCx (Mean Absorbance of Positive Control)</p> <p>Example:</p> <table style="margin-left: 40px;"> <thead> <tr> <th>Sample No.</th> <th>Absorbance</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>0.054</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>0.060</td> </tr> </tbody> </table> <p style="margin-left: 40px;">$PCx = (0.054 + 0.060) / 2 = 0.057$</p> <p>PCx must be ≤ 0.1, otherwise, the test is invalid.</p>	Sample No.	Absorbance	1	0.054	2	0.060		
Sample No.	Absorbance								
1	0.054								
2	0.060								
5.6.3.	<p>Calculation of the N-P Value</p> <p>N-P = NCx - PCx</p> <p>Example:</p> <p style="margin-left: 40px;">$N - P = 1.286 - 0.057 = 1.229$</p> <p>N-P Value must be ≥ 0.3, otherwise, the test is invalid.</p>								
5.6.4.	<p>Calculation of the Cutoff Value</p> <p>Cutoff Value = (NCx + PCx)/2</p> <p>Example:</p> <p style="margin-left: 40px;">$Cutoff Value = (1.286 + 0.057)/2 = 0.672$</p>								
5.6.5.	<p>Calculation of the Retest Range</p> <p>Retest Range = Cutoff Value $\pm 10\%$</p> <p>Example: Cutoff Value = 0.672</p> <p style="margin-left: 40px;">$Retest Range = (0.672 - 0.067) \text{ to } (0.672 + 0.067) = 0.605 \text{ to } 0.739$</p>								
5.7.	Validity of Test Runs								
5.7.1.	NCx must be ≥ 0.4, otherwise, the test is invalid.								
5.7.2.	PCx must be ≤ 0.1, otherwise, the test is invalid.								
5.7.3.	N-P Value must be ≥ 0.3, otherwise, the test is invalid.								

5.8. Interpretation of Results

- 5.8.1. Specimens with O.D. values **GREATER** than the **Cutoff Value** are considered **non-reactive** for Anti-HAV.
- 5.8.2. Specimens with O.D. values **LOWER** than or **EQUAL** to the **Cutoff Value** are considered **reactive** for Anti-HAV.
- 5.8.3. If the data is within the **Retest Range**, the test must be repeated in duplicate and interpreted as above. If the retested absorbance still within the retest range, it is suggested to test follow-up-samples.

5.9. Troubleshooting

If the result cannot be reproduced, a preliminary troubleshooting should be performed by checking the possibilities listed below:

- 5.9.1. Improper washing procedure.
- 5.9.2. Contamination with positive specimens.
- 5.9.3. Wrong volume of sample, conjugate or substrates.
- 5.9.4. Contamination of well rim with conjugate.
- 5.9.5. Improper specimen such as hemolyzed serum or plasma, specimen containing precipitate and specimen not being mixed well before use.
- 5.9.6. Wrong incubation time or temperature.
- 5.9.7. Obstructed or partial obstructed washer aspirate/dispense head and needles.
- 5.9.8. Insufficient aspiration.

5.10. Limitations and Interferences

- 5.10.1. **This reagent kit is to be used for un-pooled human serum or plasma samples only.**
- 5.10.2. **Non-repeatable reactive results may be obtained with any enzyme immunoassay kit**, largely due to technical error either on the part of the operator or malfunction of apparatus used.
- 5.10.3. The reagent kit has not been validated for use with cadaveric samples.
- 5.10.4. Potential interfering substances: By addition tests the following results were obtained:
 - 1. The anticoagulants heparin, citrate and EDTA had no effect on the test result.
 - 2. Hemoglobin up to 8.0 g/l had no effect on the test result.
 - 3. Bilirubin up to 0.3 g/l: had no effect on the test result.
 - 4. Triglyceride up to 5.0 g/l had no effect on the test result.
 - 5. A rheumatoid factor high positive specimen exhibited a false positive result.Pregnancy did not effect the test result.

5.11.

Performance Characteristics

5.11.1.

1. Specimens from hospitalized patients:

**Diagnostic
Sensitivity and
Diagnostic
Specificity**

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negative	Positive	Total
Comparison assay	Negative	984	5	989
	Positive	1	551	552
	total	985	556	1541

Diagnostic sensitivity = $100\% \times 551/552 = 99.8\%$

Diagnostic specificity = $100\% \times 984/989 = 99.5\%$

2. Patients with acute hepatitis A:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negative	Positive	Total
Comparison assay	Negative	42	0	42
	Positive	0	9	9
	total	42	9	51

Conformity = 100%

3. Hepatitis A patients in convalescent period:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negative	Positive	Total
Comparison assay	Negative	10	0	10
	Positive	0	18	18
	total	10	18	28

Conformity = 100%

4. Hepatitis B carriers:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negative	Positive	Total
Comparison assay	Negative	85	0	85
	Positive	0	22	22
	total	85	22	107

Conformity = 100%

5. Auto-immune patients:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negative	Positive	Total
Comparison assay	Negative	4	0	4
	Positive	0	16	16
	total	4	16	20

Conformity = 100%

6. Patients with HAV infection:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negative	Positive	Total
Comparison assay	Negative	0	0	0
	Positive	0	19	19
	total	0	19	19

Diagnostic specificity = 100%

Diagnostic sensitivity = 100%

7. Patients with other viral infections:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negative	Positive	Total
Comparison assay	Negative	15	0	15
	Positive	0	20	20
	total	15	20	35

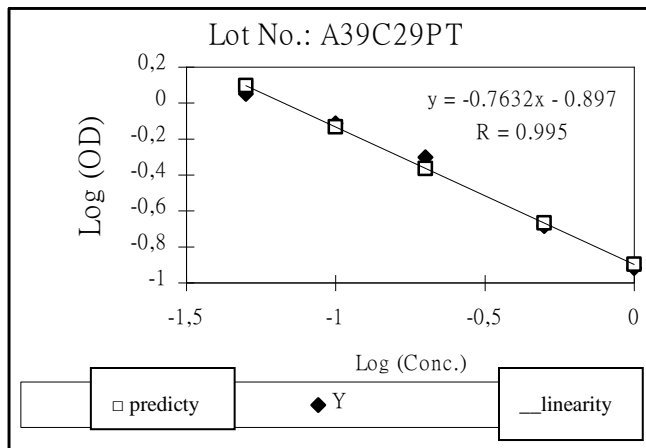
Conformity = 100%

5.11.2.

Analytical sensitivity = 0.121 PEI U/ml $\hat{=}$ 0.157 IU/ml.

Analytical
Sensitivity

Conc. (E/ml)	OD	Log (Conc.)	Log (OD)
1	0.121	0	-0.9172146
0.5	0.207	-0.30103	-0.6840297
0.2	0.499	-0.69897	-0.3018995
0.1	0.77	-1	-0.1135093
0.05	1.125	-1.30103	0.0511525
Cutoff	0.636	-0.91776471	-0.1965429
Sensitivity	0.121		PEI U/ml



PEI = Paul Ehnlich Institute

5.11.3. Precision

Intra-assay reproducibility: Intra-assay CV% < 20

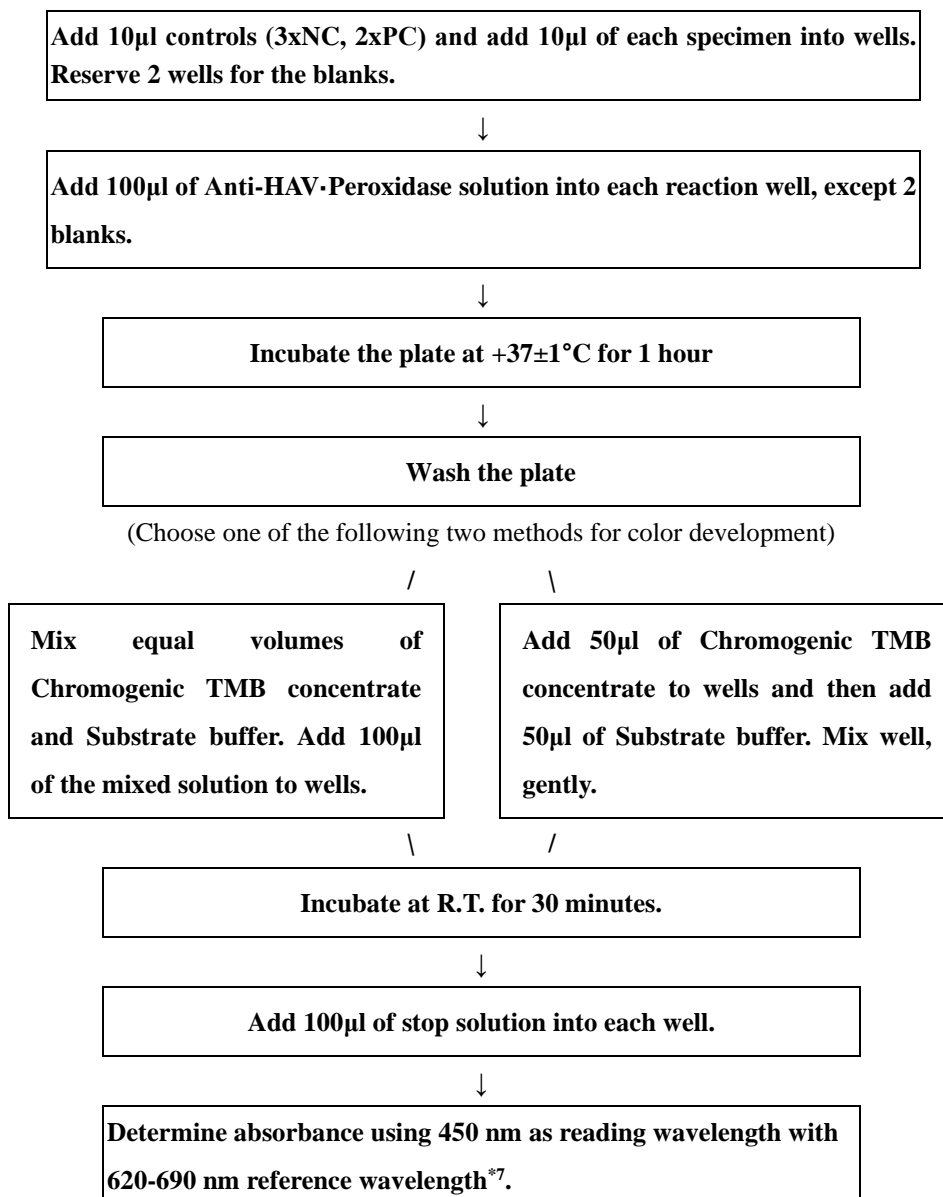
Inter-assay reproducibility: Inter-assay CV% < 25

5.11.4. Traceability:

Concentration of Anti-HAV Positive Control = 7 ± 4 PEI U/ml = 9.1 ± 5.2 IU/ml

5.12. Flow chart of the test procedure

The simplified procedure should be used only by experienced users. New users are advised to read and follow the detailed test procedure carefully.



6. Bibliography

1. Melnick JL. History and epidemiology of hepatitis A virus. J Infect Dis 1995;171(Suppl 1):2-8.
2. Koff RS. Hepatitis A. Lancet 1998;341:1643-49.
3. Lemon SM, Binn LN. Serum neutralizing antibody response to hepatitis A virus. J Infect Dis. 1983;148: 1033-1039.
4. Duermeyer W., Van der Veen J., Koster B. "ELISA in Hepatitis A". Lancet. 1978; 1(8068):823-824.
5. Lemon SM. Inactivated hepatitis A virus vaccines. Hepatology.1992;15:1194-1197.
6. Craig AS, Schaffner W. Prevention of hepatitis A with the hepatitis A vaccine N Engl J Med 2004; 350:476-481
7. The reference wavelength of spectrometer can be 620nm to 690nm. However, user should validate the photometer in combination with this kit before use.

Revision date : 2020-02-24

"Other translations of this Instructions for Use can be downloaded from our website:

<https://www.diasource-diagnostics.com/>"



Anti-HAV Elisa

es

Para la detección cualitativa in-vitro de anticuerpos contra el virus de la hepatitis A (Anti-HAV) en suero o plasma humano

KAPG4AGE3

PARA USO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. USO PREVISTO

El kit **Anti-HAV IgM ELISA** es un inmunoensayo enzimático para la detección cualitativa in-vitro del anticuerpo contra el virus de la hepatitis A (Anti-HAV) en suero o plasma humano (heparina, EDTA o citrato).

2. RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

El virus de la hepatitis A (HAV) es un virus que contiene una sola cadena de ARN sin envoltura con un diámetro de 27 nm. Pertenece a la familia de los Picornaviridae (1-2). La hepatitis A – la forma más común de hepatitis viral aguda – es una infección de transmisión fecal-oral producida en humanos después de un periodo de incubación promedio de 28 días (rango, 15-50 días). En la enfermedad causada por la infección con HAV generalmente se produce un inicio abrupto de la sintomatología que puede incluir fiebre, malestar, anorexia, náusea, molestia abdominal, orina oscura, e ictericia (2). *2.

Anti-HAV total y especialmente IgM anti-HAV es positivo al comienzo de la infección de hepatitis A. Después de la infección natural, generalmente se pueden detectar anticuerpos IgG anti-HAV durante toda la vida proporcionando protección contra la enfermedad *3-4. La detección de anti-HAV es indicativa de inmunidad vigente y ayuda a decidir si debe suministrarse inmunización activa por medio de vacunación o administrar inmunoglobulinas como profilaxis después de haber sido expuesto a una situación de riesgo *5-6.

Anti-HAV ELISA es un ensayo rápido para la detección cualitativa del anticuerpo contra el virus de la hepatitis A en muestras de suero o plasma (heparina, citrato o EDTA). El ensayo usa HAV Ag en microplacas y Anti-HAV humano conjugado con peroxidasa en una prueba competitiva para detectar los niveles de Anti-HAV en suero o plasma.

Muestras con absorbancias mayores que el Valor de Corte se consideran como NO REACTIVAS para Anti-HAV.

Muestras con absorbancias **menores o iguales** al valor de corte se consideran como **REACTIVAS para Anti-HAV**.

El ensayo debe ser repetido en duplicado para muestras con absorbancias dentro del rango de repetición (Valor de Corte \pm 10%) e interpretada como se ha indicado.

Si la absorbancia de cualquiera de las muestras repetidas en duplicado aún cae dentro del rango de repetición, se sugiere analizar muestras posteriores del paciente.

3. DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO

ANTI-HAV TOTAL ELISA es un inmunoensayo enzimático de fase sólida (ELISA= *enzyme-linked immunosorbent assay*) – basado en un principio competitivo. La fase sólida de la microplaca está formada por pocillos de poliestireno recubiertos con HAV Ag y la fase líquida del conjugado humano de Anti-HAV con peroxidasa.

Cuando una muestra de suero o plasma que contiene Anti-HAV se agrega a los pocillos recubiertos con HAV Ag junto con el Anti- HAV conjugado humano con peroxidasa y se incuban, se producirá competencia por la unión al HAV Ag al complejo (HAV Ag)-(Anti- HAV • peroxidasa) en los pocillos y/o el complejo (HAV Ag)-(Anti- HAV) se formará en los pocillos. Después de lavar la microplaca para eliminar el material que no se ha unido, se agrega una solución de sustrato TMB a los pocillos y se incuba. Debido al principio competitivo el color se desarrolla de manera inversamente

proporcional a la cantidad de Anti- HAV unido a HAV Ag que proviene de la muestra. La reacción peroxidasa-TMB se detiene agregando ácido sulfúrico. La densidad óptica del color que se ha generado se mide con un fotómetro adecuado a 450 nm con una longitud de onda de referencia seleccionada de 620 a 690 nm^{*8}

A Muestra que contiene Anti- HAV

1. Placa (HAV Ag) + muestra (Anti- HAV) + Anti- HAV · peroxidasa
→ Placa- HAV Ag-Anti- HAV complejo y Placa- HAV Ag-Anti- HAV · peroxidasa complejo
2. Lave para eliminar el material que no se ha unido.
3. + solución de sustrato TMB → de azul a azul claro a celeste/ incluso incoloro
4. Agregue ácido sulfúrico 2N para detener el desarrollo del color → Lea la DO a 450nm con una longitud de onda de referencia seleccionada entre 620 y 690nm^{*8}.

B Muestra sin Anti- HAV:


1. Placa (HAV Ag) + muestra (sin Anti- HAV) + Anti- HAV · peroxidasa
→ Placa- HAV Ag-Anti- HAV -peroxidasa complejo
2. Lave para eliminar el material que no se ha unido.
3. + solución de sustrato TMB → color de azul celeste
4. Agregue ácido sulfúrico 2N para detener el desarrollo del color → Lea la DO a 450nm con una longitud de onda de referencia seleccionada entre 620 y 690nm^{*8}.

4. DESCRIPCIÓN DE LOS MATERIALES PROPORCIONADOS

• CONDICIONES DE ALMACENAJE:

Ítems 1- 8 de la siguiente tabla de reactivos deben permanecer refrigerados entre + 2 y +8°C.

La Solución de Lavado (20X) y la solución de parada pueden almacenarse entre +2 y +30°C

Componentes	Descripción	Cant. para 96 ensayos	Componentes			
(1)	HAV Ag Placa 	Una microplaca recubierta con HAV Ag.	1 placa			
(2)	<table border="1" data-bbox="414 616 614 672"> <tr> <td>Ab</td> <td>HRP</td> </tr> </table> Solución Anti-HAV · Peroxidasa	Ab	HRP	Anti-HAV (monoclonal de ratón) Conjugado Peroxidasa en tampón con estabilizadores de proteínas. Conservantes: Gentamicina 0,003% y Timerosal 0,01%.	1 vial, 12 ml	
Ab	HRP					
(3)	Anti-HAV Control Positivo <table border="1" data-bbox="438 862 630 929"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>H</td> </tr> </table>	CONTROL	H	Plasma humano positivo para anticuerpo anti HAV en un tampón con estabilizadores de proteínas. Conservantes: Gentamicina 0,003% y Timerosal 0,01%.	1 vial, 1 ml	
CONTROL	H					
(4)	HA Control Negativo <table border="1" data-bbox="438 996 614 1064"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>L</td> </tr> </table>	CONTROL	L	Plasma humano no reactivo para anticuerpo anti HAV en un tampón con estabilizadores de proteínas. Conservantes: Gentamicina 0,003% y Timerosal 0,01%.	1 vial, 1 ml	
CONTROL	L					
(5)	Cromógeno TMB <table border="1" data-bbox="446 1198 670 1254"> <tr> <td>CHROM</td> <td>TMB</td> <td>CONC</td> </tr> </table>	CHROM	TMB	CONC	0,6 mg/ml de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) en una base orgánica	1 vial, 12 ml
CHROM	TMB	CONC				
(6)	Tampón del Sustrato <table border="1" data-bbox="438 1310 630 1366"> <tr> <td>SUB</td> <td>BUF</td> </tr> </table>	SUB	BUF	Tampón de ácido cítrico con 0,03% H ₂ O ₂ .	1 vial, 12 ml	
SUB	BUF					
(7)	Solución de Lavado Conc. (20x) <table border="1" data-bbox="454 1422 670 1478"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table>	WASH	SOLN	CONC	Tampón concentrado de fosfato con Tween-20	1 vial, 58 ml
WASH	SOLN	CONC				
(8)	Solución de Parada <table border="1" data-bbox="438 1534 630 1590"> <tr> <td>STOP</td> <td>SOLN</td> </tr> </table>	STOP	SOLN	2N H ₂ SO ₄ (ácido sulfúrico)	1 vial, 12 ml	
STOP	SOLN					

• OTROS MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

ITEMS	Componentes
(1)	Micropipetas y puntas de 10µl ,100 µl y 1,0 ml
(2)	Incubadora o baño maría con control de temperatura a +37 °C.
(3)	Equipo para lavado de placas.
(4)	Lector de microplacas ELISA: Longitud de onda dual 450nm con longitud de onda de referencia de 620-690nm*1, ancho de banda 10nm.
(5)	Agua purificada: destilada o desionizada.

(6)	Un analizador EIA de microplacas totalmente automático es opcional. El usuario debe validar el equipo en conjunto con el kit.
-----	---

4.1. CONDICIONES DE ALMACENAJE Y ESTABILIDAD DEL KIT Y SUS COMPONENTES *

Kit/componentes	Condición de almacenaje	Estado	Estabilidad
ANTI-HAV ELISA kit	+2 to +8 °C	Original	15 meses
		Una vez abierto	1 mes
Control positivo Anti-HVA	+2 to +8 °C	Original	15 meses
		Una vez abierto	1 mes
Control Negativo HA	+2 to +8 °C	Original	15 meses
		Una vez abierto	1 mes
Placa HVA Ag	+2 to +8 °C	Original	15 meses
		Una vez abierto	2 mes
Solución Conjugado Anti-HVA • Peroxidasa	+2 to +8 °C	Original	15 meses
		Una vez abierto	1 mes
Solución de Lavado Concentrada (20x)	Temp ambiente	Original	24 meses
		Una vez abierto	1 mes
Solución de Lavado Diluida 20x	Temp ambiente	Diluido	2 días
	+2 to +8 °C	Diluido	1 semana
Concentrado TMB cromogénico	+2 to +8 °C	Original	24 meses
		Una vez abierto	1 mes
Tampón del sustrato	+2 to +8 °C	Original	24 meses
		Una vez abierto	1 mes
ácido sulfúrico 2N	Temp ambiente	Original	24 meses
		Una vez abierto	1 mes

5. INSTRUCCIONES DE USO

5.1. Advertencias:

- 5.1.1. Este kit de reactivos es sólo para uso profesional.
- 5.1.2. Este kit de reactivos es sólo para uso de diagnóstico *in vitro*.
- 5.1.3. Procure que todos los reactivos del kit y las muestras alcancen temperatura ambiente (+20 to +30 °C) y mézclelos cuidadosamente antes de usar.
- 5.1.4. No use reactivos después de su fecha de caducidad.
- 5.1.5. No intercambie reactivos entre lotes diferentes
- 5.1.6. No pipetee con la boca.
- 5.1.7. No fume o coma en zonas donde se manipulan muestras o reactivos.
- 5.1.8. El control positivo, negativo, solución del conjugado y las muestras deben considerarse como peligros potenciales para la salud. Deben usarse y eliminarse de acuerdo con los procedimientos de seguridad del

laboratorio del usuario. Estos procedimientos de seguridad probablemente incluirán el uso guantes de protección y evitar la generación de aerosoles.

5.1.9. Las muestras potencialmente infecciosas y derrames o goteos que no contienen ácidos deben ser limpiados concienzudamente con hipoclorito de sodio al 5% o tratado de acuerdo con las prácticas del laboratorio para el control de un potencial riesgo biológico.

5.1.10. **Antes de eliminar los desechos de las muestras usadas y reactivos del kit como desechos generales, este debe ser tratado de acuerdo con el procedimiento local para desecho con potencial riesgo biológico o tratado como sigue:**

Tanto los desechos sólidos como los líquidos deben ser autoclavados a +121 °C por lo menos por 30 minutos.

El desecho sólido también se puede incinerar.

El desecho líquido no ácido puede tratarse con hipoclorito de sodio diluido a una concentración final de 1%.

Los desechos ácidos deben ser neutralizados antes de tratarlos con hipoclorito de sodio como se mencionó antes y debe mantenerse por 30 minutos para obtener una desinfección efectiva.

5.1.11. 2N ácido sulfúrico es irritante para los ojos, la piel, vías respiratorias y membranas mucosas. Evite el contacto de 2N ácido sulfúrico con la piel y membranas mucosas. En caso de contacto, lave con copiosa cantidad de agua inmediatamente. En caso de inhalación, proporcione aire fresco y busque ayuda médica en caso de molestias.

5.1.12. El concentrado cromogénico TMB contiene 40% de metanol que es tóxico: peligro de efectos graves irreversibles por inhalación, contacto con la piel o ingestión. El concentrado cromogénico TMB contiene dimetil sulfóxido, un irritante para la piel y membranas mucosas.

5.2. Toma de Muestra y Preparación para el Análisis

5.2.1. El paciente no requiere preparación especial antes de la toma de la muestra. La sangre debe ser tomada con técnicas médicas aprobadas.

5.2.2. Con este kit diagnóstico se puede usar suero o plasma. La muestra de sangre total debe separarse lo antes posible para evitar hemólisis. Cualquier partícula presente en la muestra (por ej. Glóbulos rojos, coágulos de fibrina) deben eliminarse antes de usar.

5.2.3. Las muestras deben almacenarse de +2 a +8 °C y evitar inactivación por calor para minimizar el deterioro. Para almacenar por periodos largos, las muestras se deben congelar por debajo de -20 °C. No se recomienda almacenarlas en congeladores que se auto descongelan.

5.2.4. Las muestras congeladas deben ser descongeladas completamente y mezcladas en forma homogénea antes del ensayo.

5.2.5. Evite congelar y descongelar en forma sucesiva

5.2.6.

1. La muestra no debe tener ningún componente de AZIDA que inhibe la actividad de la peroxidasa

ADVERTENCIA 2. Muestras de suero coaguladas y muestras con contaminación bacteriana no deben ser usadas

5.3. Almacenaje del kit

- 5.3.1. El kit debe almacenarse entre + 2 y +8 °C. No congelar.
- 5.3.2. Las tiras de las placas debes usarse dentro de 1 mes después de abrir la bolsa original de aluminio. Las tiras no usadas deben permanecer en la bolsa de aluminio firmemente sellada.
- 5.3.3. Almacene los reactivos nuevamente entre +2 y +8 °C inmediatamente después de su uso.
- 5.3.4 El concentrado (x20) de la solución de lavado es almacenado y transportado entre +2 y +8 °C, lo que puede causar cristalización. Si hay precipitado de cristales antes del uso, caliente la solución en un baño maría a +37 °C hasta que los cristales se disuelvan.

5.4. Procedimiento de lavado de placas

- 5.4.1. Preparación de la solución de lavado:
Diluya la solución de Lavado (x20) con agua destilada o desionizada a una dilución de 1:20. No use agua del grifo.
- 5.4.2. Lavado de las placas:
Se puede usar cualquier lavador de microplacas automático comercial u otro aparato que aspire/dispense líquido para realizar los lavados. El usuario debe probar los aparatos para determinar el volumen apropiado de agua y ciclos de lavado para asegurar un lavado adecuado.
Se sugiere realizar 6 ciclos de lavado con 350µl mínimo de tampón de lavado por pocillo por ciclo y remojar por al menos 10 segundos.
- 5.4.3. Seque invirtiendo la placa sobre un papel absorbente y golpeándola enérgicamente. Si queda demasiado tampón de lavado residual, podría causar resultados falsos.

ADVERTENCIA Un lavado inadecuado causará resultados falsos.

5.5. Procedimiento del Ensayo

El ensayo puede ser realizado por un analizador automático de microplacas para inmunoensayos. Prepare el programa de acuerdo con el siguiente procedimiento.

5.5.1. Permita que todos los reactivos y muestras alcancen temperatura ambiente (+20 a +30°C) antes del ensayo. Ajuste el baño maría o incubadora a $+37\pm 1^\circ\text{C}$.

5.5.2. Prepare la cantidad necesaria de pocillos, incluyendo dos pocillos para blancos, tres para el control negativo, dos para el control positivo y un pocillo para cada muestra.

Reserve 2 pocillos para blancos. **(No agregue ninguna muestra o conjugado).**

Agregue 10µl de cada control o muestra al pocillo correspondiente en la placa recubierta con HAV Ag excepto a los 2 blancos.

NOTA:

- a) Use una punta nueva de pipeta para cada muestra para evitar contaminación cruzada
- b) Cada placa necesita sus propios controles negativos, positivos y pocillos blancos.
- c) No use el valor de corte establecido para otras placas de ANTI-HAV ELISA.

5.5.3. Agregue 100 µl de solución de anti-HVA· Peroxidasa a cada pocillo excepto a los 2 blancos.

NOTA: No toque la pared del pocillo para evitar contaminación.

5.5.4. Golpee la placa suavemente

5.5.5. Selle la placa con una cubierta autoadhesiva.

5.5.6. Incube la placa a $+37\pm 1^\circ\text{C}$ en baño maría o una incubadora por 1 hora.

5.5.7. Al finalizar el periodo de incubación retire y elimine la cubierta autoadhesiva y lave la placa siguiendo "5.4. PROCEDIMIENTO DE LAVADO DE PLACAS".

5.5.8. Seleccione uno de los dos métodos siguientes para desarrollar el color:

NOTA: El concentrado cromogénico TMB debe ser entre incoloro y celeste; de otro modo debe ser eliminado. La mezcla de concentrado cromogénico TMB con tampón del sustrato debe usarse dentro de los 30 minutos a partir del momento de la mezcla. La mezcla debe protegerse de la luz intensa

A. Mezcle volúmenes iguales de **concentrado cromogénico TMB y Tampón de sustrato** en un recipiente limpio inmediatamente antes de usar. Agregue 100 µl de la solución de la mezcla a cada pocillo incluyendo los 2 pocillos blancos.

B. Agregue primero **50 µl de concentrado cromogénico TMB concentrado** y luego agregue **50 µl de Tampón del sustrato** a cada pocillo incluyendo el blanco. Mezcle suavemente.

5.5.9. Cubra la placa con la cubierta negra e incube a temperatura ambiente por 30 minutos.

5.5.10. Detenga la reacción agregando 100 µl de solución de parada en cada pocillo incluyendo el blanco.

5.5.11. Determine la absorbancia de los controles y muestras dentro de 15 minutos con un fotómetro de precisión a 450 nm con una longitud de onda seleccionada de referencia de 620 a 690nm^{*7}.

Use el blanco para blanquear el fotómetro.



NOTA: El color del blanco debe ser de incoloro a amarillento pálido; de otro modo el ensayo es inválido. En este caso el ensayo debe ser repetido.

Blanco Sustrato: la absorbancia debe ser menor de 0,100.

5.6.	Calculo de los resultados del ensayo								
5.6.1.	<p>Cálculo de la CNx (Absorbancia promedio del Control Negativo).</p> <p>Ejemplo:</p> <table> <thead> <tr> <th>Muestra No.</th> <th>Absorbancia</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>1.263</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>1.305</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>1.290</td> </tr> </tbody> </table> <p>$CN_x = (1.263 + 1.305 + 1.290)/3 = 1.286$</p> <p>CNx debe ser $\geq 0,4$ de otro modo el ensayo es inválido</p>	Muestra No.	Absorbancia	1	1.263	2	1.305	3	1.290
Muestra No.	Absorbancia								
1	1.263								
2	1.305								
3	1.290								
5.6.2.	<p>Cálculo de CPx (Absorbancia Promedio del Control Positivo)</p> <p>Ejemplo:</p> <table> <thead> <tr> <th>Muestra No.</th> <th>Absorbancia</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>0.054</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>0.060</td> </tr> </tbody> </table> <p>$PC_x = (0.054 + 0.060) / 2 = 0.057$</p> <p>CPx debe ser $\leq 0,1$ de otro modo el ensayo es inválido.</p>	Muestra No.	Absorbancia	1	0.054	2	0.060		
Muestra No.	Absorbancia								
1	0.054								
2	0.060								
5.6.3.	<p>Cálculo del Valor N-P</p> <p>N-P = CNx - CPx</p> <p>Ejemplo:</p> <p>$N - P = 1.286 - 0.057 = 1.229$</p> <p>El valor N - P debe ser $\geq 0,3$ de otro modo el ensayo es inválido.</p>								
5.6.4.	<p>Cálculo del Valor de Corte</p> <p>Valor de Corte = $(CN_x + CP_x)/2$</p> <p>Ejemplo:</p> <p>Valor de Corte = $(1.286 + 0.057)/2 = 0.672$</p>								
5.6.5.	<p>Calculo del Rango de Repetición</p> <p>Rango de Repetición = Valor de Corte $\pm 10\%$</p> <p>Ejemplo: Valor de Corte = 0.672</p> <p>Rango de Repetición = $(0.672 - 0.067)$ a $(0.672 + 0.067) = 0.605$ a 0.739</p>								
5.7.	Validez de los Ensayos								
5.7.1.	CNx debe ser $\geq 0,4$ de otro modo el ensayo es inválido								
5.7.2.	CPx debe ser $\leq 0,1$ de otro modo el ensayo es inválido.								
5.7.3.	Valor de N-P debe ser $\geq 0,3$ de otro modo el ensayo es inválido								

5.8. Interpretación de los Resultados

- 5.8.1. Las muestras con absorbancia **MAYOR** al **valor de corte** se consideran **no reactivas** para Anti-HAV.
- 5.8.2. Las muestras con absorbancia **MENOR o IGUAL** que el **Valor de Corte** se consideran como **reactivas** para Anti-HAV
- 5.8.3. Si los resultados caen dentro del Rango de Repetición, la prueba debe ser repetida en duplicado e interpretada como se ha indicado. Si la absorbancia repetida aún cae dentro el rango de repetición, se sugiere analizar muestras ulteriores.

5.9. Solución de Problemas

Si el resultando no puede ser reproducido, una solución preliminar podría obtenerse revisando las posibilidades mencionadas a continuación:

- 5.9.1. Procedimiento de lavado inadecuado.
- 5.9.2. Muestra contaminada con positivo.
- 5.9.3. Volumen de muestra, conjugado o sustrato equivocado.
- 5.9.4. Contaminación del borde del pocillo con conjugado.
- 5.9.5. Muestra inadecuada, p.ej. suero o plasma hemolizados, muestra con precipitado, muestra no suficientemente mezclada antes del uso.
- 5.9.6. Tiempo o temperatura de incubación equivocados.
- 5.9.7. Cabeza y agujas de la lavadora para dispensar/aspirar total o parcialmente obstruidas.
- 5.9.8. Aspiración insuficiente.

5.10. Limitaciones e Interferencias

- 5.10.1. **Este kit de reactivos es para ser usado con muestras de suero o plasma humano individual.**
- 5.10.2. **Resultados falsos positivos no reproducibles pueden producirse en cualquier kit de inmunoensayo enzimático**, principalmente debido a error técnico ya sea de parte del operador o funcionamiento defectuoso del aparato usado.
- 5.10.3. El kit no ha sido validado par uso con muestras de cadáver.
- 5.10.4. Sustancias que podrían interferir: Al agregar estas sustancias a las muestras del ensayo se obtuvieron los siguientes resultados:
 - 1. Los anticoagulantes heparina, citrato y EDTA no produjeron ningún efecto sobre el resultado del ensayo.
 - 2. Hemoglobina hasta 8,0 mg/ml no produjo ningún efecto sobre el resultado del ensayo.
 - 3. Bilirrubina hasta 0,3 mg/ml no tuvo ningún efecto sobre el resultado del ensayo.
 - 4. Triglicéridos hasta 5,0 mg/ml no produjeron ningún efecto sobre el resultado del ensayo.
 - 5. Una muestra con alto contenido de factor reumatoide dio un resultado falso positivo.
 - 6. El Embarazo no afectó el resultado del ensayo.

5.11. Características del Ensayo

5.11.1. 1. Muestras de pacientes hospitalizados:

**Sensibilidad y
Especificidad
Diagnostica**

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negativo	Positivo	Total
Ensayo	Negativo	984	5	989
	Positivo	1	551	552
Comparativo		total	985	556
				1541

Sensibilidad diagnóstica = $100\% \times 551/552 = 99.8\%$

Especificidad diagnóstica = $100\% \times 984/989 = 99.5\%$

2. Pacientes con hepatitis A aguda:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negativo	Positivo	Total
Ensayo	Negativo	42	0	42
	Positivo	0	9	9
Comparativo		total	42	9
				51

Conformidad = 100%

3. Pacientes con hepatitis A en periodo de convalecencia:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negativo	Positivo	Total
Ensayo	Negativo	10	0	10
	Positivo	0	18	18
Comparativo		total	10	18
				28

Conformidad = 100%

4. Portadores de hepatitis B:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negativo	Positivo	Total
Ensayo	Negativo	85	0	85
	Positivo	0	22	22
Comparativo		total	85	22
				107

Conformidad = 100%

5. Pacientes auto-protectores:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negativo	Positivo	Total
Ensayo	Negativo	4	0	4
	Positivo	0	16	16
Comparativo		total	4	16
				20

Conformidad = 100%

6. Pacientes infectados con HAV:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negativo	Positivo	Total
Ensayo Comparativo	Negativo	0	0	0
	Positivo	0	19	19
	total	0	19	19

Sensibilidad diagnóstica = 100%

Especificidad diagnóstica = 100%

7. Pacientes con otras infecciones virales:

		DIAsource Anti-HAV Elisa		
		Negativo	Positivo	Total
Ensayo Comparativo	Negativo	15	0	15
	Positivo	0	20	20
	total	15	20	35

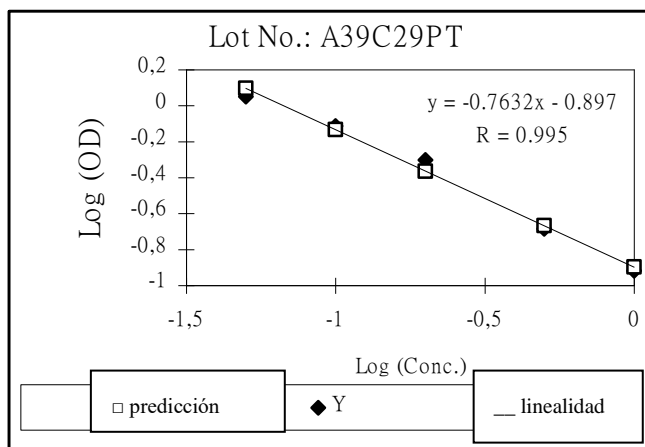
Conformidad = 100%

5.11.2.

Sensibilidad Analítica = 0.121 PEI U/ml \cong 0.157 IU/ml.

Sensibilidad Analítica

Conc. (E/ml)	DO	Log (Conc.)	Log (DO)
1	0.121	0	-0.9172146
0.5	0.207	-0.30103	-0.6840297
0.2	0.499	-0.69897	-0.3018995
0.1	0.77	-1	-0.1135093
0.05	1.125	-1.30103	0.0511525
Corte	0.636	-0.91776471	-0.1965429
Sensibilidad	0.121 PEI U/ml		



PEI = Paul Ehrlich Institute

5.11.3. **Precisión**

Repetibilidad intra-ensayo: Intra-ensayo CV% < 20

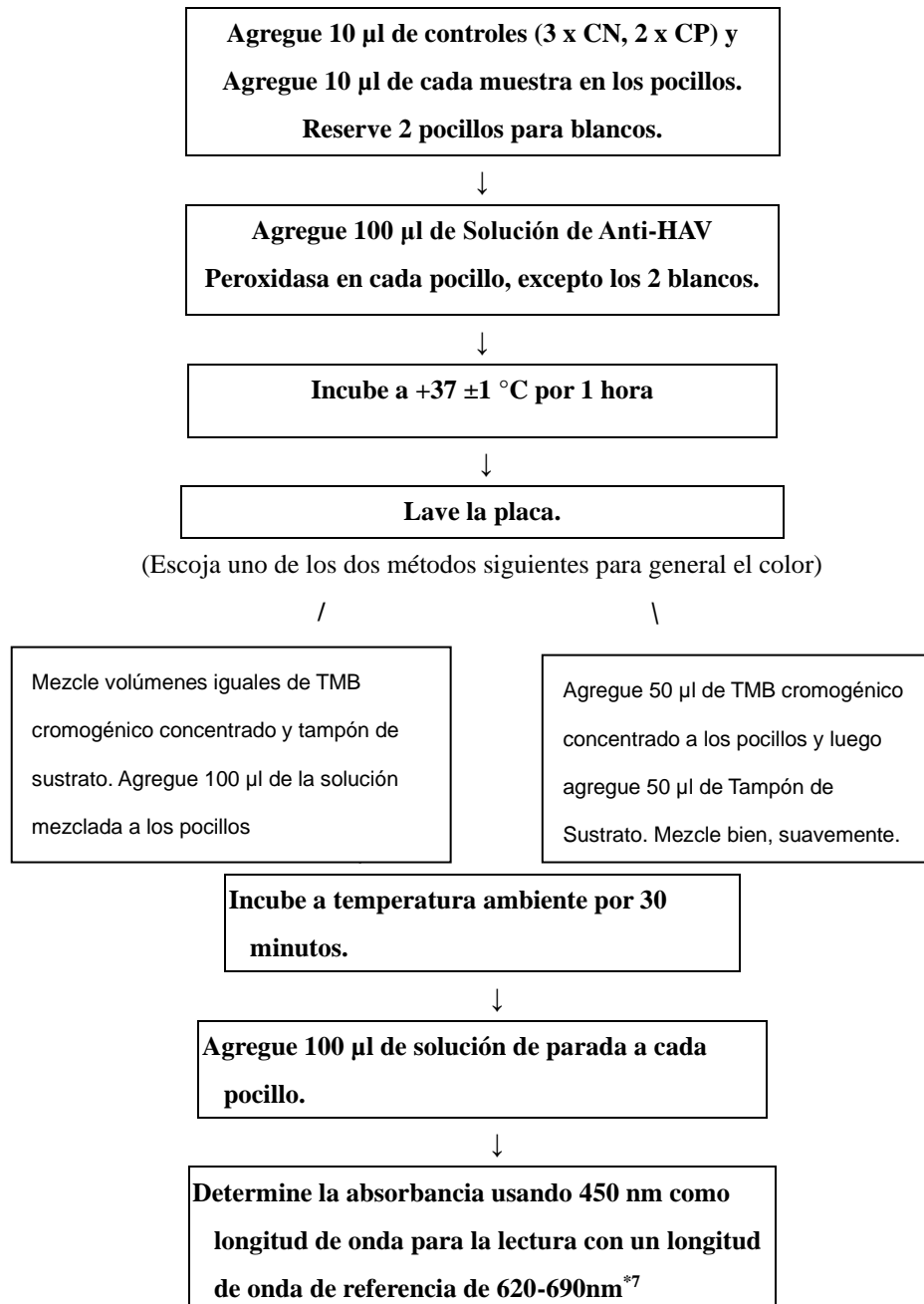
Reproducibilidad entre-ensayo: Intre-ensayo CV% < 25

5.11.4. Seguimiento

Concentración del Control Positivo de Anti-HVA = 7 ± 4 PEI U/ml = 9.1 ± 5.2 IU/ml

5.12. Diagrama de Flujo del Procedimiento del Ensayo

El procedimiento simplificado es solo para usuarios experimentados. Se recomienda a los usuarios nuevos leer y seguir el procedimiento detallado del ensayo cuidadosamente.



6. Bibliografía

1. Melnick JL. History and epidemiology of hepatitis A virus. J Infect Dis 1995;171(Suppl 1):2-8.

2. Koff RS. Hepatitis A. Lancet 1998;341:1643-49.
3. Lemon SM, Binn LN. Serum neutralizing antibody response to hepatitis A virus. J Infect Dis. 1983;148: 1033-1039.
4. Duermeyer W., Van der Veen J., Koster B. "ELISA in Hepatitis A". Lancet. 1978; 1(8068):.823-824.
5. Lemon SM. Inactivated hepatitis A virus vaccines. Hepatology.1992;15:1194-1197.
6. Craig AS, Schaffner W. Prevention of hepatitis A with the hepatitis A vaccine N Engl J Med 2004; 350:476-481
7. The reference wavelength of spectrometer can be 620nm to 690nm. However, user should validate the photometer in combination with this kit before use.

Fecha de la revisión: 2020-02-24