



ELISA para IgM frente al HEV



FECHA DE REVISIÓN: 05/05
MBL 0011-SPN-0

Nota: Cambios resaltados.

REF 21160-096T (kit de 96 análisis)

NOMBRE Y USO PREVISTO

El ensayo **ELISA para IgM frente al HEV de MP Diagnostics (MPD)** es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas diseñado para la detección de anticuerpos IgM frente al virus de la hepatitis E (HEV) en suero o plasma humanos.

INTRODUCCIÓN

En regiones en desarrollo como Asia, la antigua Unión Soviética, Centroamérica y África se ha observado el desarrollo de epidemias importantes de hepatitis "no A no B" de transmisión entérica (HNANB-TE) (1,2). También se han notificado casos esporádicos en países desarrollados como Australia, Reino Unido y Estados Unidos (3,4,5). Los casos observados en los países desarrollados se han asociado generalmente a viajes a zonas endémicas.

En general, el curso de la infección es agudo y la enfermedad remite espontáneamente sin dejar secuelas crónicas. Sin embargo, existe una elevada incidencia de mortalidad (aproximadamente, 10%-20%) en las mujeres embarazadas que se encuentran en el tercer trimestre de gestación (1), y la tasa de mortalidad es del 1%-2% en la población general, cifra que equivale a 10 veces la de la hepatitis A (HAV). La clonación del agente causal de la HNANB-TE y la identificación de los epítomos víricos comunes del genotipo (6,7) han hecho posible la creación de herramientas diagnósticas específicas para detectar anticuerpos frente al virus de la hepatitis E (HEV).

Estudios realizados en 1986 con niños egipcios de la ciudad de Benha revelaron que la exposición previa al HEV provoca una respuesta de IgG (8) que puede ser transitoria y desaparecer al cabo de 6 meses, pero que en ocasiones dura hasta 8 años o más, como se ha observado recientemente en un estudio efectuado en Taiwán (9). Se ha comprobado que la respuesta de IgM se limita a la fase aguda de la infección por el HEV. Anteriormente, la detección de la respuesta aguda en la infección por HEV se hacía mediante la observación con inmunoelectromicroscopia (IME) de las partículas víricas en las heces de las personas infectadas o por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (10,11). El equipo necesario para este método es caro, y se precisa también personal experto en la técnica. Además, la eliminación de partículas víricas suele producirse en pequeñas cantidades, que pueden no alcanzar una concentración suficiente para su detección. El ensayo **ELISA para IgM frente al HEV de MP Diagnostics** utiliza antígenos de HEV recombinante de la región estructural del genoma vírico para detectar la presencia de anticuerpos IgM asociados a la infección aguda.

DESCRIPCIÓN DE LOS SÍMBOLOS

A continuación figuran los signos gráficos que aparecen en los envases y productos de **MP Diagnostics**, y que son los que se incluyen con más frecuencia en los dispositivos médicos y sus envases. Se explican con mayor detalle en la Norma británica y europea BS EN 980: 2003.



Usar antes de
Sinónimos:
Fecha de caducidad



Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



Código de serie
Sinónimos:
Número de lote
Número de serie



Número de catálogo



Umbral de temperatura



Atención
Consulte las instrucciones de uso



Fabricante



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Contenido suficiente para <n> ensayos



Consultar las instrucciones de uso



No reutilizar

PRINCIPIOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

Los pocillos de las tiras de las microplacas de poliestireno están recubiertos con tres antígenos de HEV recombinante que se corresponden con las regiones estructurales del virus de la hepatitis E. El suero o el plasma humanos, diluidos en solución tampón, se incuban en estos pocillos recubiertos. Cuando existen anticuerpos específicos anti-HEV, dichos anticuerpos se unen a los antígenos del HEV de la fase sólida. Los pocillos se lavan minuciosamente para eliminar todo el producto no ligado y después se les añade un anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgM humana marcado con peroxidasa de rábano. Este anticuerpo marcado se une a los complejos antígeno-anticuerpo previamente formados; los anticuerpos marcados no ligados sobrantes se eliminan mediante lavado. A continuación, se añade a los pocillos una solución sustrato que contiene 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (TMB). La presencia de anticuerpos específicos es indicada por el color azul en la adición del sustrato. Para detener la reacción se añade ácido clorhídrico. La intensidad del color, que se mide por espectrofotometría a 450 nm, es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra.

COMPONENTES DEL KIT

	Descripción del componente	Cantidad suministrada
MICROPLATE	MICROPLACA DE HEV Doce tiras de 8 pocillos por placa, selladas en una bolsa de aluminio con desecante. Los pocillos de las microplacas contienen proteínas de HEV recombinante adsorbidas. Conservar a 2 °C - 8 °C.	1 placa (96 pocillos)
CONTROL - 	CONTROL NO REACTIVO Suero humano normal inactivado, no reactivo para HCV, HEV, HBsAg ni HIV 1. Contiene timerosal y azida sódica como conservantes. Conservar a 2 °C - 8 °C.	1 vial (160 µl)
CONTROL + 	CONTROL REACTIVO Suero humano inactivado con un elevado título de anticuerpos IgM específicos frente al HEV. Contiene timerosal y azida sódica como conservantes. Conservar a 2 °C - 8 °C.	1 vial (80 µl)
DILUENT	DILUYENTE Solución Tris-NaCl con suero de cabra normal termotratado, seroalbúmina bovina y estabilizantes. Contiene Bronidox™ como conservante. Conservar a 2 °C - 8 °C.	1 frasco (100 ml)
WASH PLATE 20X	CONCENTRADO PARA EL LAVADO DE LA PLACA (20X) Solución salina tamponada con fosfato con Tween-20. Contiene cloroacetamida como conservante. Conservar a 2 °C - 8 °C.	1 frasco (120 ml)
CONJUGATE IgM T	CONJUGADO Anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgM humana marcado con peroxidasa de rábano. Contiene un 0,02% de timerosal como conservante. Conservar a 2 °C - 8 °C.	1 vial (70 µl)
SUBS TMB	SUSTRATO Tampón con 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine. Conservar en la oscuridad a 2 °C - 8 °C.	1 frasco (12,5 ml)
SOLN STOP HCl 1N 	SOLUCIÓN DE PARADA Solución de ácido clorhídrico 1 N. Conservar en la oscuridad a 2 °C - 8 °C.	1 frasco (30 ml)
	TAPAS PARA PLACA Tapas adhesivas para cubrir la microplaca durante la incubación.	4 piezas
	MANUAL DE INSTRUCCIONES	1 copia

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro* únicamente.
2. Para uso exclusivo por profesionales.
3. Consulte el prospecto del producto para obtener información sobre los componentes potencialmente peligrosos.

INFORMACIÓN SANITARIA Y DE SEGURIDAD



PRECAUCIONES: Este kit contiene productos de origen humano. Ningún método de análisis permite ofrecer una garantía absoluta de que los hemoderivados humanos no transmitan una infección.

MANIPULE LAS MUESTRAS Y LOS CONTROLES REACTIVOS Y NO REACTIVOS DEL ENSAYO COMO SI FUERAN POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. Se recomienda manipular los componentes del ensayo y las muestras de conformidad con las prácticas correctas de laboratorio. Asimismo, deben desecharse siguiendo los procedimientos de seguridad establecidos.

El **control reactivo** y el **control no reactivo** contienen timerosal y azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con el cobre y el plomo que se utilizan en ciertas tuberías y formar sales explosivas. Aunque las cantidades que se usan en este kit son pequeñas, los materiales que contienen azida deben eliminarse con volúmenes relativamente grandes de agua para evitar la acumulación de azidas metálicas en las tuberías.

1. Evite la contaminación microbiana de los reactivos al abrirlas y al extraer partes alícuotas de los viales o frascos originales.
2. No pipetee con la boca.
3. Manipule las muestras, las microplacas y los controles reactivos y no reactivos como si fueran agentes potencialmente infecciosos.
4. Use bata de laboratorio y guantes desechables mientras realiza el ensayo. Deseche los guantes en bolsas para residuos biopeligrosos. Lávese bien las manos al finalizar.
5. Es muy recomendable que este ensayo se lleve a cabo en una cámara de bioseguridad.
6. Mantenga el material alejado de bebidas y alimentos.
7. En caso de accidente o contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acuda a un médico.
8. Acuda a un médico de inmediato si ingiere material contaminado o si éste entra en contacto con heridas abiertas u otras lesiones de la piel.
9. Nunca añada agua a la solución de parada.

Bronidox™ es una marca registrada de Henkel Chemical Co.

10. Limpie de inmediato los vertidos de material potencialmente infeccioso con un papel absorbente y lave la zona contaminada con una solución de hipoclorito sódico al 1% antes de reanudar el trabajo. El hipoclorito sódico no debe utilizarse para vertidos de ácido contaminantes, a menos que se seque la zona previamente con papel absorbente. Para su eliminación, el material utilizado (incluidos los guantes desechables) debe tratarse como material potencialmente biopeligroso. No utilice el autoclave para el material que contenga hipoclorito sódico.
11. Esterilice en autoclave todos los materiales usados y contaminados a 121 °C y 15 psi durante 30 minutos antes de desecharlos. Otra opción consiste en descontaminar los materiales con una solución de hipoclorito sódico al 5% durante 30-60 minutos antes de desecharlos en bolsas para residuos biopeligrosos.
12. Descontamine todos los productos químicos y reactivos usados añadiéndoles un volumen de hipoclorito sódico suficiente como para conseguir una concentración final de al menos el 1%. Déjelos en reposo durante 30 minutos para lograr una descontaminación eficaz.
8. Utilice sólo agua destilada o desionizada de calidad reactivo para diluir los reactivos.
9. Todos los reactivos deben mezclarse bien antes de su uso.
10. La solución del conjugado de trabajo y el tampón de lavado diluido **deben estar recién preparados**.
11. No exponga los reactivos ni realice los análisis en un área en la que exista un nivel elevado de vapores de desinfectantes químicos (p. ej., vapores de hipoclorito) durante las etapas de almacenamiento y de incubación, ya que el contacto con los mismos inhibe la reacción colorimétrica. Los reactivos tampoco deben exponerse a la luz intensa.
12. Deje las microplacas en su bolsa de almacenamiento hasta el momento inmediatamente anterior a su uso. Las tiras abiertas que no se hayan utilizado deben conservarse a 2 °C - 8 °C dentro de su bolsa de almacenamiento y con el desecante suministrado.
13. Los controles del kit deben analizarse al mismo tiempo que las muestras clínicas en cada serie de análisis.

PRECAUCIONES ANALÍTICAS

1. Para obtener un rendimiento óptimo del ensayo es necesario un **CUMPLIMIENTO Estricto** del procedimiento descrito en el presente Manual de instrucciones. Cualquier modificación del procedimiento puede provocar resultados anómalos.
2. **NO CAMBIE NI SUSTITUYA LOS REACTIVOS DE UN LOTE DEL KIT POR LOS DE OTRO.** Los controles, el conjugado y las microplacas están ajustados para un rendimiento óptimo. Use sólo los reactivos que se suministran con el kit.
3. No utilice los componentes del kit después de la fecha de caducidad que figura en la caja.
4. Evite la contaminación microbiana de los reactivos al abrirlos y al extraer partes alícuotas de los viales o frascos originales, ya que ello reduciría de forma prematura el periodo de validez de los kits y daría lugar a resultados erróneos. Al extraer partes alícuotas de los viales utilice técnicas asépticas, como pipetas o puntas de pipeta desechables.
5. Para evitar la contaminación cruzada, use una punta de pipeta nueva para cada alícuota que se extraiga de la muestra y no toque el borde ni el fondo de las tiras, el borde de los pocillos ni el líquido de los mismos con los dedos ni con las puntas de pipeta.
6. Se aconseja lavar el material de vidrio que se vaya a utilizar para los reactivos con ácido clorhídrico 2M y aclararlo bien con agua destilada o desionizada antes de usarlo.
7. Para obtener mejores resultados, permita que todos los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (25 °C ± 3 °C) antes de usarlos. Inmediatamente después del uso, vuélvalos a conservar a 2 °C - 8 °C.
14. Debe evitarse tocar o salpicar el borde del pocillo con el conjugado. No “exprima” la micropipeta. Se aconseja el pipeteo invertido siempre que sea posible.
15. El uso de muestras muy hemolizadas, sueros no totalmente coagulados, muestras de plasma con fibrina o muestras con contaminación microbiana puede causar resultados erróneos.
16. **NO INCUBE LAS PLACAS AL BAÑO MARÍA.**
17. No deben usarse incubadoras de CO₂.
18. Durante la incubación a 37 °C, es necesario evitar la evaporación. Cubra las placas con las tapas adhesivas suministradas a tal fin.
19. Evite abrir y cerrar repetidamente la puerta del incubador durante las etapas de incubación.
20. No almacene la solución de parada en una placa plana, ni la devuelva a un frasco de reserva después de usarla.
21. Asegúrese de que el fondo de la placa esté limpio y seco y que la superficie del líquido no presente burbujas antes de leer la placa. Elimine todas las burbujas del pocillo, por ejemplo mediante golpecitos suaves.
22. Asegúrese de que el equipo automatizado haya sido validado antes de su uso.
23. Para evitar la contaminación por arrastre de muestras muy reactivas a muestras no reactivas, es muy recomendable realizar el mantenimiento sistemático del sistema de aspiración y lavado.

INSTRUCCIONES DE CONSERVACIÓN

1. Conserve el kit del ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD y sus componentes a 2 °C - 8 °C cuando no se esté utilizando.
2. Todos los reactivos y microplacas de la prueba, si se conservan a 2 °C - 8 °C, son estables hasta la fecha de caducidad que figura en el kit. No congele los reactivos.
3. Cuando el concentrado para el lavado de la placa (20x) se conserva a 2 °C - 8 °C pueden formarse cristales, que deben disolverse por calentamiento a 37 °C antes de su uso.
4. Cuando el diluyente se conserva a 2 °C - 8 °C puede precipitar; ello no afecta al rendimiento del kit.
5. Las microplacas abiertas que no se hayan utilizado deben conservarse a 2 °C - 8 °C en una bolsa cerrada y con el desecante suministrado.

RECOGIDA, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras deben conservarse a 2 °C - 8 °C si el análisis se va a llevar a cabo en los 7 días posteriores a la extracción, o congelarse a una temperatura de al menos -20 °C si el análisis se va a retrasar más de 7 días. Es preferible utilizar muestras transparentes y no hemolizadas. Las muestras lipémicas, ictericas o contaminadas (por partículas) deben filtrarse (0,45 µm) o centrifugarse antes del ensayo.

El suero de los pacientes puede estar inactivado, pero no es un requisito indispensable para el rendimiento óptimo del análisis.

Para efectuar la inactivación:

1. Afloje las tapas de los recipientes con el suero.
2. Caliente el suero a 56 °C durante 30 minutos al baño María.
3. Deje enfriar el suero antes de volver a ajustar las tapas.
4. El suero puede conservarse congelado hasta el análisis.

Recomendamos que el suero de los pacientes no se someta a ciclos repetidos de congelación y descongelación.

MATERIAL ADICIONAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

1. Papel absorbente desechable para el banco de trabajo y toallas de papel.
2. Recipientes o tubos de polipropileno.
3. Pipetas graduadas: 5 ml, 10 ml.
4. Pipeteador multicanal capaz de dispensar 50 µl, 100 µl y 200 µl.
5. Pipeteador capaz de dispensar 1-1000 µl.
6. Puntas de pipeta desechables.
7. Recipientes para reactivos (cubetas) con capacidad para 25 ml.
8. Agua destilada o desionizada de calidad para análisis..
9. Matraces: 500 ml, 1 litro.
10. Incubador a 37 °C.
11. Lector de placas para microensayos de longitud de onda doble (A_{450} - A_{620}) o sencilla (A_{450}).
12. Solución de hipoclorito sódico al 5% o lejía doméstica líquida.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

1. CONJUGADO DE TRABAJO

- a. El CONJUGADO DE TRABAJO debe estar **recién preparado**.
- b. Para preparar el conjugado diluido, diluya a 1:200 el conjugado con el diluyente suministrado en el kit.
- c. Utilice únicamente tubos o recipientes de polipropileno.
- d. Consulte la tabla para la preparación del conjugado de trabajo.

TABLA DE PREPARACIÓN DEL CONJUGADO

Número de análisis	Vol. de conjugado (µl)	Vol. de diluyente (ml)
24	15	3,0
48	30	6,0
72	45	9,0
96	60	12,0

2. TAMPÓN DE LAVADO DILUIDO

- a. El TAMPÓN DE LAVADO DILUIDO **debe estar recién preparado**.
- b. Diluya 1 volumen de CONCENTRADO PARA EL LAVADO DE LA PLACA con 19 volúmenes de agua destilada (de calidad para análisis). Mezcle bien. Se necesitan aproximadamente 400 ml de tampón de lavado para lavar 1 placa.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

IMPORTANTE: los inmunoensayos de este tipo son sensibles a la temperatura y al paso del tiempo. El cumplimiento estricto del procedimiento del ensayo garantiza un rendimiento óptimo del mismo. Cualquier modificación del procedimiento recomendado puede provocar resultados anómalos.

1. Extraiga la microplaca de la bolsa de aluminio.
2. Agite la muestra y los viales de los controles antes de su uso.
3. Llene un recipiente para reactivos con el **DILUYENTE**. Mediante un pipeteador multicanal, añada 200 µl de **DILUYENTE** en todos los pocillos. 200 µl
4. Los pocillos A1 y B1 son “**BLANCOS**”. **NO AÑADA MUESTRAS EN ESOS POCILLOS**. Vierta otros 10 µl de diluyente en estos pocillos. 10 µl
5. Añada 10 µl de muestra al pocillo asignado, empezando por el pocillo H1. Con ello obtendrá una dilución final de la muestra de 1: 21. **NO DISPENSE MUESTRA EN UN POCILLO VACÍO**. 10 µl
6. Tras haber dispensado la muestra problema, añada 10 µl de **CONTROL NO REACTIVO** por pocillo a los pocillos C1, D1 y E1. 10 µl
7. Vierta 10 µl de **CONTROL REACTIVO** por pocillo en los pocillos F1 y G1. Mezcle bien mediante golpecitos suaves en todos los laterales de la microplaca, asegurándose de mantener la placa horizontal en la mesa de trabajo. 10 µl
8. Cubra con cuidado la microplaca con una de las tapas suministradas para evitar la evaporación durante la incubación.
9. **Incube durante 30 minutos a 37 °C (no use baño María a 37 °C para la incubación)**. 30 minutos
10. Prepare el **CONJUGADO DE TRABAJO** tal y como se describe en **PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS** antes de lavar la microplaca.
11. Retire y deseche la tapa de la placa y lave la microplaca con el **TAMPÓN DE LAVADO DILUIDO** siguiendo uno de los dos métodos recomendados. 300 µl por pocillo x 6
 - A. Lavado automático o semiautomático de la microplaca: lave seis (6) veces con al menos 300 µl por pocillo por lavado.
 - B. Lavado manual de la microplaca: aspire la totalidad del contenido de todos los pocillos bajando la punta del aspirador lentamente hasta el fondo de cada pocillo. **TENGA CUIDADO DE NO ROZAR LA SUPERFICIE INTERIOR DEL POCILLO**. Llene la placa completa con al menos 300 µl/pocillo y, a continuación, aspire inmediatamente en el mismo orden. Repita este ciclo seis (6) veces.
12. Invierta la microplaca y presiónela con firmeza sobre papel absorbente para secarla. El papel desecante debe eliminar cualquier resto del tampón de lavado que quede en la placa, ya que éste puede inhibir la aparición de color durante la incubación del sustrato.
13. Llene un recipiente para reactivos con el **CONJUGADO DE TRABAJO**. Mediante un pipeteador multicanal, dispense 100 µl de **CONJUGADO DE TRABAJO** en cada pocillo. Ponga otra tapa para placa. 100 µl
14. **Incube la microplaca durante 30 minutos a 37 °C (no use baño María a 37 °C para la incubación)**. 30 minutos
15. Retire y deseche la tapa de la placa. Repita el procedimiento de lavado descrito en los pasos 11 y 12. 300 µl por pocillo x 6
16. Llene un recipiente para reactivos con la **SOLUCIÓN SUSTRATO**. Mediante un pipeteador multicanal, dispense 100 µl de **SOLUCIÓN SUSTRATO** en cada pocillo. Ponga una tapa para placa. 100 µl
17. Incube durante 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (25 ± 3 °C). 15 minutos
18. Retire y deseche la tapa de la placa.
19. Mediante un pipeteador multicanal, dispense 100 µl de **SOLUCIÓN DE PARADA** en cada pocillo. Mezcle suavemente mediante golpecitos en la placa. 100 µl
20. Determine la absorbancia de cada pocillo a 450 nm. Si se utiliza un dispositivo con filtro doble, la longitud de onda de referencia debe ser de 620 nm.

NOTA: La absorbancia se debe leer en el plazo de 10 minutos sobre la adición de la SOLUCIÓN DE PARADA.

CONTROL DE CALIDAD

1. El BLANCO y el CONTROL REACTIVO deben analizarse por duplicado y el CONTROL NO REACTIVO debe analizarse por triplicado en cada placa y en todas las series de muestras.
2. Los valores de absorbancia del blanco deben ser $\leq 0,100$.
3. Los valores de absorbancia del control no reactivo deben ser $\leq 0,100$ tras restar el blanco.
4. Los dos valores de absorbancia del control reactivo deben ser $\geq 0,500$ tras restar el blanco.
5. Para que el ensayo sea válido, la diferencia entre las absorbancias medias del control reactivo y el control no reactivo ($\bar{x}CR - \bar{x}CNR$) debe ser mayor o igual a 0,400. En caso contrario, debe sospecharse un error en la técnica y habrá que repetir el ensayo. Si $\bar{x}CR - \bar{x}CNR$ da cifras bajas sistemáticamente, debe sospecharse que los reactivos se han deteriorado.

RESULTADOS

Cada microplaca debe considerarse por separado al calcular e interpretar los resultados del ensayo, independientemente del número de placas que se hayan procesado a la vez.

LOS VALORES MEDIOS DE LA ABSORBANCIA DEL BLANCO DEBEN RESTARSE DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA TANTO DE LOS CONTROLES COMO DE LAS MUESTRAS ANTES DE INTERPRETAR LOS RESULTADOS.

La presencia o ausencia de anticuerpos IgM específicos frente al HEV se determina relacionando la absorbancia de las muestras con el VALOR UMBRAL de la placa.

El VALOR UMBRAL del ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD se calcula como $0,400 +$ la absorbancia media del control no reactivo.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

1. Cálculo de la absorbancia media del control no reactivo ($\bar{x}CNR$)

Ejemplo:	N.º de pocillo	Absorbancia
	C1	0,010
	D1	0,012
	E1	0,008
	Total	0,030
	Media	$0,030/3 = 0,010$ ($\bar{x}CNR$)

Los valores individuales del control no reactivo deben ser menores o iguales a 0,100 unidades. Si uno de los valores del control no reactivo no cumple los criterios anteriores, debe considerarse anómalo y excluirse. En ese caso, la media del control no reactivo ($\bar{x}CNR$) debe volver a calcularse utilizando los valores individuales del control no reactivo restantes. Todos los valores individuales del control no reactivo restantes deben cumplir los criterios; de lo contrario, el ensayo no es válido y habrá que repetirlo.

2. Cálculo de la absorbancia media del control reactivo ($\bar{x}CR$)

Ejemplo:	N.º de pocillo	Absorbancia
	F1	0,758
	G1	0,732
	Total	1,490
	Media	$1,490/2 = 0,745$ ($\bar{x}CR$)

Los valores individuales del control reactivo deben ser pero mayores o iguales a 0,500 unidades. Si uno de los valores del control reactivo no cumple cualquiera de los criterios anteriores, el ensayo no es válido y habrá que repetirlo.

3. Cálculo de la diferencia entre $\bar{x}CR$ y $\bar{x}CNR$

Ejemplo:	$\bar{x}CNR$	$= 0,010$
	$\bar{x}CR$	$= 0,745$
	$\bar{x}CR - \bar{x}CNR$	$= 0,745 - 0,010$
		$= 0,735$

Para que el ensayo sea válido, el valor de $\bar{x}CR - \bar{x}CNR$ debe ser mayor o igual a 0,400. En caso contrario, debe sospecharse un error en la técnica o un deterioro de los reactivos y habrá que repetir el ensayo.

4. Cálculo del valor UMBRAL

	Valor UMBRAL	$= 0,400 + \bar{x}CNR$
Ejemplo:	$\bar{x}CNR$	$= 0,010$
	Valor UMBRAL	$= 0,400 + 0,010$
		$= 0,410$

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. El ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD considera **no reactivas** las muestras con valores de absorbancia **menores** que el valor UMBRAL.
2. El ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD considera **inicialmente reactivas** las muestras con valores de absorbancia **mayores o iguales** al valor UMBRAL; las muestras deben volverse a analizar por duplicado antes de su interpretación.
3. El ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD considera que las muestras que resultan reactivas al repetir el análisis presentan **reactividad repetida** para los anticuerpos IgM frente al HEV.
4. El ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD considera que las muestras que son inicialmente reactivas y resultan **no reactivas** al repetir el análisis son **negativas**.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL ENSAYO

Especificidad y sensibilidad

Se ha utilizado la detección de virus en muestras de sangre o de heces durante la fase inicial de la infección para establecer la presencia de hepatitis E. Sin embargo, los virus sólo se pueden detectar si las muestras de suero o de heces se recogen en una etapa lo suficientemente precoz, a ser posible durante los primeros 14 días tras la aparición de los síntomas (12). Basada en la detección de virus, la sensibilidad del ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD se determina en función de la capacidad para detectar el número de positivos presente en este panel de sueros bien caracterizado. De las 152 muestras que se recogieron en el periodo de ventana de 14 días, 141 fueron reactivas con el ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD. Esta cifra representa una sensibilidad del 93%.

La serorreactividad en las personas sanas de poblaciones de bajo riesgo suele ser bastante baja, aproximadamente $\leq 1\%$, mientras que en las personas sanas que viven en zonas endémicas tiende a ser algo mayor. La serorreactividad indica exposición reciente al virus de la hepatitis E.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

Un resultado de reactividad repetida con el ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD indica presunción de anticuerpos IgM frente al HEV en la muestra. Un resultado **NO REACTIVO** con el ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD indica la probable ausencia de anticuerpos IgM frente al HEV detectables en la muestra. Un resultado **NEGATIVO** no descarta la posibilidad de exposición al HEV ni de infección por este virus.

En un kit de ensayo de este tipo pueden sospecharse resultados falsamente reactivos. La proporción de falsos reactivos depende de la sensibilidad y la especificidad del kit de ensayo. En la mayoría de los ensayos diagnósticos, cuanto mayor sea la prevalencia de anticuerpos en una población, menor será la proporción de muestras falsamente reactivas.

En estudios internos se constató que la presencia de factor reumatoide (FR) o de títulos elevados de IgG no afecta al rendimiento del ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD. El uso de métodos para la extracción de IgG (p. ej., reactivo para la eliminación del factor reumatoide o RFRR), con los que es necesario diluir la muestra, puede afectar a la sensibilidad del ensayo ELISA para IgM frente al HEV de MPD.

CLÁUSULA DE EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD

La única garantía expresa que otorga el fabricante es que el kit de análisis funcionará como ensayo diagnóstico *in vitro*, de acuerdo con las especificaciones y limitaciones descritas en el Manual de instrucciones del producto, cuando se use de conformidad con las instrucciones citadas en el mismo. El fabricante rehúsa cualquier garantía, expresa o implícita, incluida la garantía expresa o implícita relativa a la comercialización, adecuación para el uso o supuesta utilidad para cualquier otro fin. El fabricante sólo se obliga a la sustitución del producto o al reembolso del precio de compra del mismo. El fabricante no será responsable ante el comprador ni ante terceros de cualesquiera daños, perjuicios o pérdidas económicas provocados por la utilización o la aplicación del producto. El fabricante no realiza declaración alguna, expresa ni implícita, acerca de que este producto no infrinja los derechos de propiedad intelectual de terceros.

PROBLEMAS TÉCNICOS Y RECLAMACIONES

En caso de problemas técnicos o si desea presentar una reclamación, proceda de la siguiente manera:

1. Anote el número de lote del kit y su fecha de caducidad.
2. Conserve los kits y los resultados obtenidos.
3. Póngase en contacto con la oficina de MP Biomedicals más cercana o con su distribuidor local.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bradley, D.W. 1990. Enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. pp 442-461. In A.J. Zuckerman (ed) British Medical Bulletin 46(2). Churchill Livingstone, Nueva York.
2. Purcell, R.H. and J.R. Ticehurst. 1988. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis: Epidemiology and clinical characteristics. pp. 131-137, In A.J. Zuckerman (ed). Viral Hepatitis and Liver Disease. Alan R. Liss Inc., Nueva York.
3. Moaven, L.D., A.J. Fuller, J.C. Doultree, J.A. Marshall, D.S. Bowden, R.A. Moeckli and S.A. Locarnini. 1993. A case of acute hepatitis E in Victoria. Medical Journal of Australia 159; 124-125,
4. Skidmore, S.J., P.O. Yarbough, K.A. Gabor, A.W. Tam, G.R. Reyes, A.J.E. Flower. 1991 Imported hepatitis E in UK. The Lancet 337;1541.
5. Dawson, G.J., I.K. Mushahwar, K.H. Chau, G. L. Gitnick. 1992. Detection of long-lasting antibody to hepatitis E virus in a US traveller to Pakistan. The Lancet 340;426,
6. Reyes, G.R., M.A. Purdy, J.P. Kim, K.C. Luk, L.M. Young, K.E. Fry, and D. Bradley. 1990. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. Science 247: 1335.
7. Yarbough, P.O., A.W. Tam, K.E. Fry, K. Krawczynski, K.A. McCaustland, D.W. Bradley and G.R. Reyes. 1991. Hepatitis E virus: Identification of type-common epitopes. Journal of Virology 65: 5790.
8. Goldsmith, R., P.O. Yarbough, K.E. Fry, K.A. Gabor, M. Kamel, S. Zakaria, S. Amer, Y. Gaffar. 1992. Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of acute sporadic hepatitis E in Egyptian children. The Lancet 339;328-331,
9. Lee, S.D., Y.J. Wang, R.H. Lu, C.Y. Chan, K.J. Lo, R.A. Moeckli. 1993. Seroprevalence of Antibody to Hepatitis E Virus among Chinese Subjects in Taiwan. Hepatology Vol 19, No. 4, 1994.
10. Balayan, M.S. 1991. HEV Infection : Historical Perspectives, Global Epidemiology, and Clinical Features. In F.B. Hollinger, S.M. Lemon, and H. Margolis (editor), Viral Hepatitis and Liver Disease. Williams & Wilkins, Baltimore.
11. Uchida, T., et al. 1991. Virulence of Hepatitis E virus with Serial Passage to Cynomolgus Monkeys and Identification of Viremia. In F.B. Hollinger, S.M. Lemon, and H. Margolis (editor), Viral Hepatitis and Liver Disease. Williams & Wilkins, Baltimore.
12. Edward T Clayson, Khin Saw Aye Myint, Rapin Snitban, David W Vaughn, Bruce L Innis, Lily Chan, Peter Cheung, Mrigendra P Shrestha. Viremia, Fecal Shedding, and IgM and IgG Responses in Patients with Hepatitis E. Journal of Infectious Diseases 1995 :172-927-33.

**MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.**

85 Science Park Drive
#04-01, The Cavendish
Singapore Science Park,
Singapur 118259
Tel.: + 65 6775 0008
Fax: + 65 6775 4536
Correo electrónico: enquiry_ap@mpbio.com



Medical Technology Promedt
Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert
Alemania
Tel.: + 49 68 94 58 1020
Fax: + 49 68 94 58 1021
Correo electrónico: info@mt-procons.com

Oficinas regionales:**MP Biomedicals Suisse S.A.**

Halle de Fret/Aéroport
Apartado de correos 1015
1211 Ginebra 5
Suiza
Tel. : (4122) 788-1908
Fax : (4122) 788-1986
Correo electrónico: mpbiosuisse@mpbio.com

- | | |
|-----------------------------|---|
| * Patente en Estados Unidos | 5,741,490; 5,770,689;
5,885,768; 5,686,239 |
| * Patente en Singapur | 39445, 49225 |
| * Australia | 644878 |
| * Taiwán | 63167 |
| * Corea del Sur | 178399, 180530 |
| * Otras patentes pendientes | |

* El nombre y el logotipo de Genelabs cuentan con licencia de Genelabs Technologies, Inc.