

NADAL® HAV IgG/IgM Test (test cassette)

REF 622970N-30



de	Gebrauchsanweisung	2	pt	Instruções de Utilização	26
en	Instructions for use	6	cs	Návod k použití	30
fr	Instructions d'utilisation	10		Symbols	35
es	Instrucciones de uso	14		Our Teams	36
it	Istruzioni per l'uso	18			
pl	Sposób użycia	22			

nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12
47445 Moers
Germany

Moers
Tel: +49 (2841) 99820-0
Fax: +49 (2841) 99820-1

Regensburg
Tel: +49 941 29010-0
Fax: +49 941 29010-50

www.nal-vonminden.com
info@nal-vonminden.com

Directors:
Sandra von Minden
Roland Meißner
Thomas Zander

Commercial reg. Kleve
HRB 5679
Steuer-Nr. 244/133/00130
UST-ID-Nr. DE 189 016 086



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® HAV IgG/IgM Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von anti-Hepatitis-A-Virus-IgG und -IgM (anti-HAV-IgG und -IgM) in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von aktiven und/oder früheren HAV-Infektionen bestimmt und liefert eine erste Verdachtsdiagnose (siehe Punkt 12. „Grenzen des Tests“). Positive Ergebnisse müssen mit (einer) alternativen Testmethode(n) (z. B. PCR oder ELISA) und klinischen Befunden bestätigt werden. Die Testdurchführung ist nicht automatisiert und erfordert keine spezielle Schulung oder Qualifikation. Der NADAL® HAV IgG/IgM Test ist nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Hepatitis-A-Virus (HAV) ist ein nicht-behülltes RNA-Virus der Familie *Picornaviridae*, Genus *Hepatovirus*, das im Jahr 1973 erstmals isoliert wurde.¹ Seine Übertragung erfolgt in erster Linie durch fortlaufende Übertragungen von Mensch zu Mensch über den fäkal-oralen Weg. HAV kann jedoch auch durch kontaminiertes Wasser, engen persönlichen Kontakt, sexuellen Kontakt und illegalen Drogenkonsum übertragen werden. Die Erkrankung zeichnet sich durch ein schnelles Einsetzen der Symptome nach einer Inkubationszeit von ca. 28 Tagen (15-50 Tagen) aus. Anzeichen und Symptome können Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, dunkler Urin, Gelbsucht, Fieber, Kopfschmerzen, Gewichtsverlust und Bauchschmerzen sein. Die Wahrscheinlichkeit der Symptome nimmt mit dem Alter zu. Normalerweise dauert eine akute Erkrankung nicht mehr als zwei Monate. Es gibt keine chronische Virusausscheidung und kein chronisches Stadium der Krankheit, obwohl Rezidive, akute fulminante Hepatitis und weitere Komplikationen auftreten können.² Anti-HAV-IgM sind bei oder vor dem Einsetzen der klinischen Krankheit nachweisbar und nehmen innerhalb von etwa 3 bis 6 Monaten wieder ab. Anti-HAV-IgG treten kurz nach IgM auf, verbleiben jahrelang nach der Infektion und verleihen lebenslange Immunität.³ Das Vorhandensein von anti-HAV-IgG und die Abwesenheit von anti-HAV-IgM können dazu verwendet werden, um zwischen zurückliegenden und aktuellen Infektionen zu unterscheiden. IgM-Assays können für kurze Zeit Antikörper in Personen nachweisen, welchen kürzlich eine Hepatitis A-Impfung verabreicht wurde. Allerdings führen geringere Konzentrationen, die 4 bis 6 Monate nach dem Einsetzen der Infektion nachgewiesen werden, in der Regel zu keinen positiven Testergebnissen.^{4,5}

3. Testprinzip

Der NADAL® HAV IgG/IgM Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von anti-HAV-IgG und -IgM in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben.

Maus anti-human-IgG und Maus anti-human-IgM sind im jeweiligen Testlinienbereich „IgG“ und „IgM“ der Membran immobilisiert.

Während der Testung binden anti-HAV-IgG und/oder -IgM, falls in der Probe vorhanden, an die HAV-Antigene, die mit farbigen Partikeln konjugiert und auf dem Konjugat-Pad der

Testkassette vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert dann chromatographisch durch Kapillarkraft die Membran entlang und reagiert mit den Reagenzien auf der Membran. Die Komplexe werden dann von den Maus anti-human-IgG und Maus anti-human-IgM in den Testlinienbereichen „IgG“ bzw. „IgM“ abgefangen. Das Vorhandensein einer farbigen Linie im Testlinienbereich „IgG“ und/oder „IgM“ deutet auf ein positives anti-HAV-IgG und/oder anti-HAV-IgM Ergebnis hin. Die Abwesenheit einer farbigen Linie im Testlinienbereich „IgG“ und/oder „IgM“ weist auf ein negatives anti-HAV-IgG und/oder anti-HAV-IgM Ergebnis hin.

Das Erscheinen einer farbigen Linie im Kontrolllinienbereich „C“ dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 30 NADAL® HAV IgG/IgM Testkassetten
- 30 Kapillarröhrchen (5 µL)
- 1 Puffer „Buffer“ (6 mL)*
- 1 Gebrauchsanweisung

*Enthält folgendes Konservierungsmittel: ProClin™ 300: 0,05%.

Gemäß Verordnung (EC) Nr. 1272/2008 CLP ist für ProClin™ 300 keine Gefahrenkennzeichnung erforderlich.

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter (geeignet für das zu testende Probenmaterial)
- Zentrifuge (nur für Serum- oder Plasmaproben)
- Alkoholpads
- Lanzetten (nur für Vollblutproben aus Fingerpunktion)
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Test-Kits sollten bei 2-30°C bis zum angegebenen Verfallsdatum gelagert werden. Die Testkassetten sind bis zum auf dem Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum stabil. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Test-Kits nicht ein. Verwenden Sie die Tests nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie die Bestandteile des Test-Kits nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Keine Bestandteile des Test-Kits verwenden, wenn die Primärverpackung beschädigt ist.

- Verwenden Sie den Test nicht, wenn der Folienbeutel keinen Trockenmittelbeutel enthält oder wenn ein Trockenmittelbeutel im Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests sind nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Geben Sie Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld).
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probensammelbehälter verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Verwenden Sie den Puffer nicht, wenn er Verfärbungen oder Trübungen aufweist. Verfärbungen oder Trübungen können ein Anzeichen für eine mikrobielle Kontamination sein.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits gearbeitet wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieses Test-Kit enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Gesundheitszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z. B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Der NADAL® HAV IgG/IgM Test kann mit Vollblut (aus Venen- oder Fingerpunktion), Serum oder Plasma durchgeführt werden.

Vollblutprobenentnahme aus Fingerpunktion

- Waschen Sie die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser oder säubern Sie sie mit einem Alkoholpad. Lassen Sie sie trocknen.
- Massieren Sie die Hand ohne dabei die Einstichstelle zu berühren, indem Sie die Hand abwärts in Richtung der Kuppe des Mittel- oder Ringfingers reiben.
- Stechen Sie die Haut mit einer sterilen Lanzette. Wischen Sie den ersten Blutstropfen ab.
- Reiben Sie vorsichtig die Hand vom Handgelenk zur Handfläche und zum Finger, damit sich auf dem Einstichpunkt ein runder Tropfen bildet.

Vollblutproben aus Fingerpunktion sollten unverzüglich getestet werden.

Vollblutproben aus Venenpunktion

Für die Aufbereitung von venösem Vollblut aus Plasmaproben sollten Probensammelbehälter mit Antikoagulantien,

wie EDTA, Natriumcitrat, oder Natriumheparin verwendet werden.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum auf.

Venöses Vollblut sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden, wenn der Test innerhalb von 24 Stunden nach Probenentnahme durchgeführt wird.

Frieren Sie die Vollblutproben nicht ein.

Serum- und Plasmaproben

Trennen Sie Serum oder Plasma so schnell wie möglich vom Blut, um eine Hämolyse zu vermeiden. Verwenden Sie nur klare, nicht hämolytierte Proben.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum auf. Serum- und Plasmaproben können bei 2-8°C bis zu 5 Tage gelagert werden. Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei -20°C gelagert werden.

Bringen Sie Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur. Eingefrorene Proben sollten vor Testdurchführung vollständig aufgetaut und vorsichtig sowie gut gemischt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

Wenn Proben versendet werden sollten, sollten diese unter Einhaltung von geltenden Vorschriften für den Transport ätiologischer Krankheitserreger verpackt werden.

Iktische, lipämische, hämolytische, wärmebehandelte oder kontaminierte Proben können zu falschen Testergebnissen führen.

9. Testdurchführung

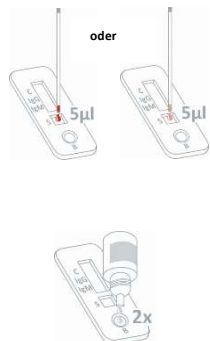
Bringen Sie alle Tests, Proben, Puffer und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

1. Entnehmen Sie die Testkassette dem Folienbeutel und verwenden Sie sie so schnell wie möglich. Die besten Ergebnisse werden erhalten, wenn der Test unverzüglich nach der Öffnung des Folienbeutels durchgeführt wird. Kennzeichnen Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation.
2. Legen Sie die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche.
3. Halten Sie das Kapillarröhrchen senkrecht, saugen Sie damit die Probe (Vollblut/Serum/Plasma) bis zur Fülllinie (ca. 5 µL) auf und geben Sie sie in die Probenvertiefung (S) der Testkassette.

Alternativ kann auch eine Mikropipette (5 µL) verwendet werden.

Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung (S) und geben Sie keine Lösung in das Ergebnisfeld.

4. Halten Sie das Pufferfläschchen senkrecht und geben Sie 2 Tropfen (ca. 60-80 µL) Puffer in die



Puffervertiefung (B) der Testkassette.

Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Puffervertiefung (B) und geben Sie keine Lösung in das Ergebnisfeld.

5. Starten Sie den Timer.
6. Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Testergebnis nach 15 Minuten aus. Nach mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

Positiv für IgM:

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich „C“. Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „IgM“. Das Testergebnis weist auf das Vorhandensein von anti-HAV-IgM hin.

Positiv für IgG:

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich „C“. Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „IgG“. Das Testergebnis weist auf das Vorhandensein von anti-HAV-IgG hin.

Positiv für IgM und IgG:

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich „C“. Eine farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „IgM“ und eine weitere im Testlinienbereich „IgG“. Das Testergebnis weist auf das Vorhandensein von anti-HAV-IgG und -IgM hin.

Hinweis:

Die Farbtintensität im Testlinienbereich „IgG“ oder „IgM“ kann abhängig von der in der Probe vorhandenen Konzentration der anti-HAV-Antikörper variieren. Daher sollte jede Farbtönung im Testlinienbereich „IgG“ oder „IgM“ als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

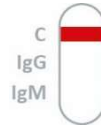
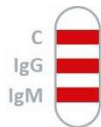
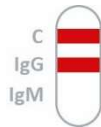
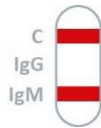
Negativ:

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich „C“. Es erscheinen keine farbigen Linien in den Testlinienbereichen „IgM“ oder „IgG“.

Ungültig:

Die Kontrolllinie „C“ erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.

Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem



weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich „C“ erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die *Gute Laborpraxis (GLP)* empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® HAV IgG/IgM Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch ausgelegt. Der Test sollte nur zum qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von anti-HAV-IgG und -IgM in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmastrichen verwendet werden.
- Weder der quantitative Wert noch die Steigerungsrate/Senkungsrate der Konzentration von anti-HAV-Antikörpern können mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.
- Die Genauigkeit des Tests ist von der Qualität der Probe abhängig. Falsche Ergebnisse können von einer unsachgemäßen Probenahme oder Probenlagerung herrühren (siehe Punkt 8. „Probenahme, -vorbereitung und -lagerung“).
- Einige Proben mit ungewöhnlich hohen Titern von heterophilen Antikörpern oder Rheumafaktoren (≥ 1000 IU/mL) können die Testergebnisse beeinträchtigen.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollten alle Ergebnisse im Zusammenhang mit weiterer klinischer Information, die dem Arzt zur Verfügung steht, ausgewertet werden.
- Der NADAL® HAV IgG/IgM Test zeigt nur das Vorhandensein von anti-HAV-Antikörpern in der Probe und sollte nicht als einziges Kriterium für eine Diagnose einer HAV-Infektion verwendet werden.
- Eine HAV-Infektion kann schnell fortschreiten. Sollte das Testergebnis negativ ausfallen, klinische Symptome aber weiter anhalten, empfiehlt es sich, zusätzliche Testungen unter Verwendung anderer klinischer Methoden, wie z. B. PCR oder ELISA durchzuführen.
- Ein negatives Ergebnis schließt zu keinem Zeitpunkt eine mögliche Exposition gegenüber HAV oder eine akute Infektion mit HAV aus. Proben, die zu früh im Verlauf einer Infektion entnommen wurden, können eine IgM-Konzentration enthalten, die unter der Nachweisgrenze dieses Tests liegt.
- Ein negatives Testergebnis kann auftreten, wenn der Titer der in der Probe vorhandenen HAV-Antikörper unter der Nachweisgrenze des Tests liegt oder wenn die nachgewiesenen HAV-Antikörper während des Krankheitsstadiums, in dem die Probe entnommen wurde, nicht vorhanden waren.
- Das Vorhandensein der nachweisbaren anti-HAV IgG kann auf frühere Infektionen und/oder Impfungen zurückgeführt werden.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Klinische Leistungsmerkmale

Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Der NADAL® HAV IgG/IgM Test wurde mit klinischen Plasma-proben evaluiert, deren Status mittels ELISA bestätigt wurde.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen dargestellt.

NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgG) vs. ELISA

		anti-HAV IgG ELISA		
NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgG)		Positiv	Negativ	Total
	Positiv	125	4	129
	Negativ	0	71	71
	Total	125	75	200

Diagnostische Sensitivität: >99,9% (97,1% - 100,0%)*

Diagnostische Spezifität: 94,7% (86,9% - 98,5%)*

Gesamtübereinstimmung: 98,0% (95,0% - 99,5%)*

*95% Konfidenzintervall

NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgM) vs. ELISA

NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgM)	anti-HAV IgM ELISA			
		Positiv	Negativ	Total
	Positiv	91	7	98
	Negativ	5	203	208
	Total	96	210	306

Diagnostische Sensitivität: 94,8% (88,3% - 98,3%)*

Diagnostische Spezifität: 96,7% (93,3% - 98,7%)*

Gesamtübereinstimmung: 96,1% (93,3% - 98,0%)*

*95% Konfidenzintervall

Leistung mit Boston Biomedica Inc (BBI) Anti-HAV Seroconversion Panel

Die Leistung des NADAL® HAV IgG/IgM Tests wurde mit dem BBI Anti-HAV Seroconversion Panel (PHT903) evaluiert. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

BBI Reference Panel: HAV ELISA		NADAL® HAV IgG/IgM Test
Typ	Anzahl	Übereinstimmung
HAV IgG positiv	8	8 (100%)
HAV IgG negativ	2	2 (100%)
HAV IgM positiv	8	8 (100%)
HAV IgM negativ	2	2 (100%)

Analytische Leistungsmerkmale

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des NADAL® HAV IgG/IgM Tests liegt bei 70 mIU/mL für IgG (NIBSC 97/646).

Analytische Spezifität

Kreuzreaktivität

Serumproben von den folgenden infektiösen Krankheiten und Immunomarkern (anti-HAV-IgG sowie anti-HAV-IgM negativ) wurden mit dem NADAL® HAV IgG/IgM Test getestet.

HBV	Malaria
HCV	Tuberkulose
HEV	<i>T. pallidum</i>
HIV	Typhus
hCG	ANA
Dengue	HAMA
<i>H. pylori</i>	Rheumafaktoren (bis zu 1000 IU/mL)

Bei der Testung mit dem NADAL® HAV IgG/IgM Test wurde keine Kreuzreaktivität mit den Proben beobachtet.

Interferierende Substanzen

Negative und schwach positive anti-HAV-IgG sowie anti-HAV-IgM Proben wurden mit den folgenden potentiell interferierenden Substanzen versetzt und zeigten keine Interferenz mit dem NADAL® HAV IgG/IgM Test.

Substanz	Konzentration
Albumin	60 g/L
Bilirubin	0,2 mg/mL
Kreatinin	442 µmol/L
EDTA	3,4 µmol/L
Glucose	55 mmol/L
Hämoglobin	2 g/L
Natriumheparin	3000 IU/mL
Salicylsäure	4,24 mmol/L
Natriumcitrat	3,4%

Präzision

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit wurde durch das Testen von 20 Replikaten von negativen, schwach, mittel und stark positiven anti-HAV-IgG sowie von schwach positiven anti-HAV-IgM Serumproben bestimmt. Die Testungen wurden an einem Tag von einem Anwender mit 3 Chargen der NADAL® HAV IgG/IgM Tests an einem Standort durchgeführt. >99% der Proben wurden richtig bestimmt (20/20 korrekte Testungen je Konzentration, 95%-Konfidenzintervall: 96,4% - 100% für jede Charge). Der NADAL® HAV IgG/IgM Test zeigte eine akzeptable Wiederholbarkeit.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde durch das Testen von 2 Replikaten von negativen, schwach, mittel und stark positiven anti-HAV-IgG sowie von schwach positiven anti-HAV-IgM Serumproben bestimmt. Die Testungen wurden an 5 verschiedenen Tagen von 2 Anwendern mit 3 unabhängigen Chargen der NADAL® HAV IgG/IgM Tests an 3 Standorten durchgeführt. >99% der Proben wurden richtig bestimmt (180/180 korrekte Testungen je Konzentration, 95%-Konfidenzintervall: 99,6% - 100%). Der NADAL® HAV IgG/IgM Test zeigte eine akzeptable Reproduzierbarkeit.

14. Meldung schwerwiegender Vorkommnisse

Bei schwerwiegenden Vorkommnissen im Zusammenhang mit der Leistung des NADAL® HAV IgG/IgM Tests informieren Sie bitte unverzüglich die nal von minden GmbH und die zuständige Behörde. Wenn möglich, den verwendeten Test und die entsprechenden Bestandteile des Test-Kits **nicht** entsorgen.

15. Referenzen

1. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. Science. 1973;182:1026-1028.
2. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. Am Fam Physician. 2012 Dec 1;86(11):1027-34.
3. Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, Washington DC, 2002
4. Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach. Clin Microbiol Rev. 2006 Jan;19(1):63-79.
5. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. J Infect Dis, 1995, 171(Suppl 1):S9-S14.

Rev. 0, 2022-05-23 OM

1. Intended Use

The NADAL® HAV IgG/IgM Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the qualitative detection and differentiation of anti-hepatitis A virus IgG and IgM (anti-HAV IgG and IgM) in human whole blood, serum or plasma specimens. The test is intended for use as an aid in the diagnosis of active and/or past HAV infections and provides an initial presumptive diagnosis (see section 12 'Limitations'). Positive results must be confirmed using (an) alternative testing method(s) (such as PCR or ELISA) and clinical findings. The test procedure is not automated and requires no special training or qualification. The NADAL® HAV IgG/IgM Test is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

First isolated in 1973,¹ the hepatitis A virus (HAV) is a non-enveloped RNA virus of the family *Picornaviridae*, genus *Hepatovirus*. Its transmission occurs primarily through serial transmissions from person to person by the fecal-oral route. However, HAV can also be contracted from contaminated water, close personal contact, sexual contact, and illicit drug use. Following an incubation period of approximately 28 days (15-50 days), the disease is characterised by a rapid onset of symptoms. Signs and symptoms can include nausea, vomiting, diarrhoea, dark urine, jaundice, fever, headaches, weight loss and abdominal pain. The likelihood of symptoms increases with age. Normally, acute illness does not last more than two months. There is no chronic viral shedding and no chronic stage of the disease, though recurrences, acute fulminant hepatitis and other complications may occur.² Anti-HAV IgM are detectable at or prior to the onset of clinical illness and decline in about 3 to 6 months. Anti-HAV IgG appear soon after IgM, persist for years after infection and confer lifelong immunity.³ The presence of anti-HAV IgG and the absence of anti-HAV IgM can be used to differentiate between past and current infections. IgM assays can detect antibodies in individuals who have recently received a hepatitis A vaccine for a short period of time. However, lower concentrations detected 4 to 6 months after the onset of infection typically do not produce a positive test result.^{4,5}

3. Test Principle

The NADAL® HAV IgG/IgM Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the qualitative detection and differentiation of anti-HAV IgG and IgM in human whole blood, serum or plasma specimens.

Mouse anti-human IgG and mouse anti-human IgM are immobilised in the test line regions of the membrane labelled 'IgG' and 'IgM' respectively.

During the test, anti-HAV IgG and/or anti-HAV IgM, if present in the specimen, bind to the HAV antigens conjugated to coloured particles and precoated onto the conjugate pad of the test cassette. The mixture then migrates along the membrane by capillary action and interacts with the reagents on the membrane. The complexes are then captured by the mouse anti-human IgG and mouse anti-human IgM in the test line regions 'IgG' and 'IgM' respectively. The presence of a coloured line in the test line region 'IgG' and/or 'IgM' indicates a positive anti-HAV IgG and/or anti-HAV IgM result. The absence of a coloured line in the test line region 'IgG' and/or

'IgM' indicates a negative anti-HAV IgG and/or anti-HAV IgM result.

The formation of a coloured line in the control line region 'C' serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 30 NADAL® HAV IgG/IgM test cassettes
- 30 capillary tubes (5 µL)
- 1 buffer (6 mL)*
- 1 package insert

*containing the following preservative: ProClin™ 300: 0.05%.

No hazard labelling for ProClin™ 300 is required according to Regulation (EC) N° 1272/2008 CLP.

5. Additional Materials Required

- Specimen collection containers (appropriate for specimen material to be tested)
- Centrifuge (for serum or plasma specimens only)
- Alcohol pads
- Lancets (for fingerstick whole blood specimens only)
- Timer

6. Storage and Stability

Test kits should be stored at 2-30°C until the indicated expiry date. Test cassettes are stable until the expiry date printed on the foil pouches. Test cassettes must remain in the sealed foil pouches until use. Do not freeze test kits. Do not use tests beyond the expiry date indicated on the packaging. Care should be taken to protect test kit components from contamination. Do not use test kit components if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to inaccurate results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the entire instructions for use prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the packaging.
- Do not use test kit components if the primary packaging is damaged.
- Do not use the test if the foil pouch does not contain a desiccant bag or if a desiccant bag is damaged inside the foil pouch.
- Tests are for single use only.
- Do not add specimens to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection container for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not use the buffer if it is discoloured or turbid. Discolouration or turbidity may be a sign of microbial contamination.

- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be disposed of in accordance with local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

The NADAL® HAV IgG/IgM Test can be performed using whole blood (from venipuncture or fingerstick), serum or plasma.

To collect fingerstick whole blood specimens:

- Wash the patient's hand with soap and warm water or clean it with an alcohol pad. Allow it to dry.
- Massage the hand, without touching the puncture site, by rubbing along the hand towards the fingertip of the middle or ring finger.
- Puncture the skin with a sterile lancet. Wipe away the first drop of blood.
- Gently rub the hand from the wrist to the palm, and then to the finger to form a rounded drop of blood over the puncture site.

Fingerstick whole blood should be tested immediately.

Venipuncture whole blood specimens

Containers containing anticoagulants, such as EDTA, sodium citrate or heparin sodium should be used for the preparation of venous whole blood or plasma specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time.

If the test is to be run within 24 hours of specimen collection, whole blood collected by venipuncture should be stored at 2-8°C.

Do not freeze whole blood specimens.

Serum and plasma specimens

Separate serum or plasma from blood as soon as possible to avoid haemolysis. Use only clear, non-haemolysed specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time. Serum and plasma specimens can be stored at 2-8°C for up to 5 days. For long-term storage, specimens should be kept at -20°C.

Bring specimens to room temperature prior to testing. Frozen specimens should be completely thawed and mixed well as

well as carefully prior to testing. Specimens should not be frozen and thawed repeatedly.

If specimens are to be shipped, they should be packed in compliance with all applicable regulations for the transportation of etiologic agents.

Icteric, lipemic, haemolysed, heat-treated and contaminated specimens may lead to inaccurate test results.

9. Test Procedure

Bring tests, specimens, buffer and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

1. Remove the test cassette from the foil pouch and use it as soon as possible. The best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch. Label the test cassette with the patient or control identification.

2. Place the test cassette on a clean and level surface.

3. Holding the capillary tube vertically, draw the specimen (whole blood/ serum/ plasma) up to the fill line (approximately 5 µL) and add it to the to the specimen well (S) of the test cassette.

Alternatively, a micropipette (5 µL) may be used.

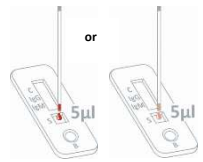
Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S) and do not add any solution to the result area.

4. Holding the buffer bottle vertically, add 2 drops (approximately 60-80 µL) of buffer to the buffer well (B).

Avoid trapping air bubbles in the buffer well (B) and do not add any solution to the result area.

5. Start the timer.

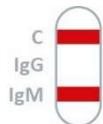
6. Wait for the coloured line(s) to appear. Read the test result after 15 minutes. Do not interpret the result after more than 20 minutes.



10. Result Interpretation

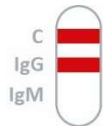
Positive for IgM:

A coloured line develops in the control line region 'C'. Another coloured line develops in the test line region 'IgM'. The test result indicates the presence of anti-HAV IgM.



Positive for IgG:

A coloured line develops in the control line region 'C'. Another coloured line develops in the test line region 'IgG'. The test result indicates the presence of anti-HAV IgG.



Positive for IgM and IgG:

A coloured line develops in the control line region 'C'. A coloured line develops in the test line region 'IgM' and another one develops in the test line region 'IgG'. The



test result indicates the presence of anti-HAV IgM and IgG.

Note: The colour intensity in the test line regions 'IgG' or 'IgM' may vary depending on the concentration of anti-HAV antibodies in the specimen. Therefore, any shade of colour in the test line region 'IgG' or 'IgM' should be considered positive. Note that this is a qualitative test only and it cannot determine the analyte concentration in the specimen.

Negative:

A coloured line develops in the control line region 'C'. No coloured lines develop in the test line regions 'IgM' or 'IgG'.

Invalid:

The control line 'C' fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded.

Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for control line failure.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing in the control line region 'C' is considered an internal positive procedural control. It confirms sufficient specimen volume, correct procedural technique and adequate membrane wicking.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of external control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® HAV IgG/IgM Test is for professional *in-vitro* diagnostic use only. The test should be used for the qualitative detection and differentiation of anti-HAV IgG and IgM in human whole blood, serum or plasma specimens only.
- Neither the quantitative value nor the rate of increase/decrease in the concentration of anti-HAV antibodies can be determined using this qualitative test.
- The accuracy of the test depends on the quality of the specimen. Inaccurate test results may occur due to improper specimen collection or storage (see section 8 'Specimen Collection and Preparation').
- Some specimens containing unusually high titers of heterophile antibodies or rheumatoid factor (≥ 1000 IU/mL) may affect test results.
- As with all diagnostic tests, all results should be interpreted by a physician in conjunction with other available clinical information.
- The NADAL® HAV IgG/IgM Test only detects the presence of anti-HAV antibodies in specimens and should not be used as the sole criterion for a diagnosis of an HAV infection.

- An HAV infection may progress rapidly. If the test result is negative but clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods such as PCR or ELISA is recommended.
- A negative result does not at any time preclude the possibility of exposure to or an acute infection with HAV. Specimens collected too early in the course of an infection may contain IgM levels which are below the detection limit of this test.
- A negative test result may occur if the titer of HAV antibodies present in the specimen is below the detection limit of the test or if the detected HAV antibodies were not present during the stage of disease in which the specimen was collected.
- The presence of detectable anti-HAV IgG may be due to past infections and/or vaccination.

13. Performance Characteristics

Clinical performance

Diagnostic sensitivity and specificity

The NADAL® HAV IgG/IgM Test was evaluated using clinical plasma specimens whose status was confirmed using ELISA.

The results are presented in the following tables:

NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgG) vs. ELISA

NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgG)	anti-HAV IgG ELISA		
	Positive	Negative	Total
Positive	125	4	129
Negative	0	71	71
Total	125	75	200

Diagnostic sensitivity: >99.9% (97.1% - 100.0%)*

Diagnostic specificity: 94.7% (86.9% - 98.5%)*

Overall agreement: 98.0% (95.0% - 99.5%)*

*95% confidence interval

NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgM) vs. ELISA

NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgM)	anti-HAV IgM ELISA		
	Positive	Negative	Total
Positive	91	7	98
Negative	5	203	208
Total	96	210	306

Diagnostic sensitivity: 94.8% (88.3% - 98.3%)*

Diagnostic specificity: 96.7% (93.3% - 98.7%)*

Overall agreement: 96.1% (93.3% - 98.0%)*

*95% confidence interval

Performance on Boston Biomedica Inc (BBI) Anti-HAV Seroconversion Panel

The performance of the NADAL® HAV IgG/IgM Test was evaluated using the BBI Anti-HAV Seroconversion Panel (PHT903). The results are presented in the following table:

BBI Reference Panel: HAV ELISA		NADAL® HAV IgG/IgM Test	
Type	Number	Agreement	
HAV IgG positive	8	8 (100%)	
HAV IgG negative	2	2 (100%)	
HAV IgM positive	8	8 (100%)	
HAV IgM negative	2	2 (100%)	

Analytical performance

Detection limit

The detection limit of the NADAL® HAV IgG/IgM Test is 70 mIU/mL for IgG (NIBSC 97/646).

Analytical specificity

Cross-reactivity

Serum specimens of the following infectious diseases and immunomarkers (anti-HAV IgG as well as anti-HAV IgM negative) were tested using the NADAL® HAV IgG/IgM Test.

HBV	Malaria
HCV	Tuberculosis
HEV	<i>T. pallidum</i>
HIV	Typhoid fever
hCG	ANA
Dengue	HAMA
<i>H. pylori</i>	Rheumatoid factors (up to 1000 IU/mL)

No cross-reactivity with the specimens was observed when tested using the NADAL® HAV IgG/IgM Test.

Interfering substances

Negative and low positive anti-HAV IgG as well as anti-HAV IgM specimens spiked with the following potentially interfering substances showed no interference with the NADAL® HAV IgG/IgM Test.

Substance	Concentration
Albumin	60 g/L
Bilirubin	0.2 mg/mL
Creatinine	442 µmol/L
EDTA	3.4 µmol/L
Glucose	55 mmol/L
Haemoglobin	2 g/L
Heparin sodium	3000 IU/mL
Salicylic acid	4.24 mmol/L
Sodium citrate	3.4%

Precision

Repeatability

Repeatability was established by testing 20 replicates of negative, low, medium and high positive anti-HAV IgG and low positive anti-HAV IgM serum specimens. Testing was performed by one operator using 3 lots of the NADAL® HAV IgG/IgM tests at one site on one day. >99% of the specimens were correctly identified (20/20 correct tests per concentration, 95% confidence interval: 96.4% - 100% for each lot). The NADAL® HAV IgG/IgM Test demonstrated acceptable repeatability.

Reproducibility

Reproducibility was established by testing 2 replicates of negative, low, medium and high positive anti-HAV IgG and low positive anti-HAV IgM serum specimens. Testing was performed by 2 operators using 3 independent NADAL® HAV IgG/IgM test lots at 3 different sites on 5 separate days. >99% of the specimens were correctly identified (180/180 correct tests per concentration, 95% confidence interval: 99.6% - 100%). The NADAL® HAV IgG/IgM Test demonstrated acceptable reproducibility.

14. Serious incident reporting

In the case of any serious incidents related to the performance of the NADAL® HAV IgG/IgM Test, please inform nal von minden GmbH and the competent authority immediately. If still possible, do **not** dispose of the used test and the corresponding test kit components.

15. References

1. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. *Science*. 1973;182:1026-1028.
2. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. *Am Fam Physician*. 2012 Dec 1;86(11):1027-34.
3. Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. American Society for Microbiology, Washington DC, 2002
4. Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis a virus infection: a molecular approach. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Jan;19(1):63-79.
5. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. *J Infect Dis*. 1995; 171(Suppl 1):S9-S14.

Rev. 0, 2022-05-23 OM

1. Domaine d'application

Le test NADAL® HAV IgG/IgM est un immunodosage chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative et la différenciation des IgG et IgM anti-virus de l'hépatite A (IgG et IgM anti-HAV) dans des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humains. Le test est une aide au diagnostic des infections au HAV actives et/ou antérieures et fournit un premier diagnostic présumé (cf. Chapitre 12 « Limites du test »). Les résultats positifs doivent être confirmés par une (des) méthode(s) de test alternative(s) (p. ex. PCR ou ELISA) et des résultats cliniques. Le test n'est pas automatisé et ne nécessite aucune formation ou qualification particulière. Le test NADAL® HAV IgG/IgM est réservé à un usage professionnel.

2. Introduction et signification clinique

Le virus de l'hépatite A (HAV) est un virus à ARN sans enveloppe de la famille des *Picornaviridae* et du genre *Hepatovirus*, isolé pour la première fois en 1973.¹ Le virus se propage par voie oro-fécale, principalement entre les êtres humains. Cependant, le HAV peut également être transmis par de l'eau contaminée, lors d'un contact très proche entre deux personnes, lors de relations sexuelles ou lors de la consommation de drogues. La maladie se caractérise par une apparition rapide des symptômes après une période d'incubation d'environ 28 jours (15 à 50 jours). Les signes et symptômes sont : nausées, vomissements, diarrhée, urines foncées, jaunisse, fièvre, maux de tête, perte de poids et maux de ventre. Les symptômes augmentent avec l'âge. En règle générale, une infection aiguë ne dure pas plus de deux mois. Il n'existe pas d'excrétion chronique du virus ni de stade chronique de la maladie, bien que des récurrences, une hépatite fulminante aiguë et d'autres complications puissent survenir.² Les IgM anti-HAV sont détectables avant ou pendant l'apparition de la maladie clinique et diminuent dans les 3 à 6 mois qui suivent. Les IgG anti-HAV apparaissent après les IgM, persistent pendant des années après l'infection et confèrent une immunité à vie.³ La présence d'IgG anti-HAV et l'absence d'IgM anti-HAV peut servir à distinguer les infections passées des infections actuelles. Les tests d'IgM détectent pendant une courte période les anticorps chez les personnes qui ont été récemment vaccinées contre l'hépatite A. Cependant, des concentrations faibles, détectées 4 à 6 mois après le début de l'infection, ne produisent généralement pas de résultats de test positifs.^{4,5}

3. Principe du test

Le test NADAL® HAV IgG/IgM est un immunodosage chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative et la différenciation des IgG et IgM anti-virus de l'hépatite A dans des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humains.

Des anticorps de souris anti-IgG humains et des anticorps de souris anti-IgM humains sont immobilisés respectivement à hauteur de la zone de test « IgM » et « IgG » de la membrane.

Pendant le test, les IgG et/ou IgM anti-HAV, si présents dans l'échantillon, se lient aux antigènes HAV conjugués à des particules colorées et présents sur le tampon de conjugué de la cassette de test. Le mélange migre ensuite par capillarité chromatographique le long de la membrane et réagit avec les

réactifs de la membrane. Les complexes sont ensuite immobilisés par les anticorps de souris anti-IgG humains et les anticorps de souris anti-IgM humains dans les zones de test « IgG » et « IgM ». La présence d'une ligne colorée dans la zone de test « IgG » et/ou « IgM » indique un résultat positif pour les IgG anti-HAV et/ou les IgM anti-HAV. L'absence d'une ligne colorée dans la zone de test « IgG » et/ou « IgM » indique un résultat négatif pour les IgG anti-HAV et/ou les IgM anti-HAV.

L'apparition d'une ligne colorée dans la zone de contrôle « C » sert de procédure de contrôle et indique qu'un volume suffisant d'échantillon a été ajouté et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Réactifs et matériels fournis

- 30 cassettes de test NADAL® HAV IgG/IgM
- 30 tubes capillaires (5 µL)
- 1 solution tampon « Buffer » (6 mL)*
- 1 notice d'utilisation

*contient le conservateur suivant : ProClim™ 300 : 0,05 %.

Selon le règlement européen n°1272/2008, le CLP, aucun étiquetage de danger n'est requis pour le ProClim™ 300.

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Récipient collecteur (adapté à l'échantillon à tester)
- Centrifugeuse (pour les échantillons de sérum ou de plasma uniquement)
- Tampons imprégnés d'alcool
- Lancettes (pour les prélèvements de sang total par ponction du doigt uniquement)
- Chronomètre

6. Conservation et stockage des réactifs

Les kits doivent être conservés entre 2°C et 30°C jusqu'à la date de péremption indiquée. Les cassettes sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage d'origine. La cassette de test doit rester dans son emballage d'origine jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler les tests. Ne pas utiliser les tests après expiration de la date de péremption figurant sur l'emballage. Protéger les composants du kit de toute contamination. Ne pas utiliser les composants du kit de test s'ils présentent des signes de contamination microbienne ou de précipitation. La contamination biologique des doseurs, réactifs et réactifs peut entraîner des résultats erronés.

7. Avertissements et précautions

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Lire la notice d'utilisation attentivement avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après expiration de la date de péremption figurant sur l'emballage.
- Ne pas utiliser les composants des tests si l'emballage primaire est endommagé.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage ne contient pas de sachet déshydratant ou si le sachet déshydratant contenu dans l'emballage est endommagé.
- Tests à usage unique.
- Ne pas déposer d'échantillon sur la zone réactive (fenêtre de lecture des résultats).

- Ne pas toucher la zone réactive (fenêtre de lecture des résultats) afin d'éviter toute contamination.
- Pour éviter toute contamination croisée, un collecteur d'échantillons dédié doit être utilisé pour chaque échantillon.
- Ne pas interchanger ou mélanger les composants de différents kits.
- Ne pas utiliser le tampon s'il présente une décoloration ou une turbidité. Une décoloration ou une turbidité peut être un signe de contamination microbienne.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation des échantillons et des kits.
- Lors de la manipulation des échantillons, porter des vêtements de protection : blouse, gants à usage unique et lunettes de protection.
- Manipuler tous les échantillons comme de potentiels composants infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce kit de test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et/ou l'état sanitaire des animaux ne garantit pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les produits utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières potentiellement infectieuses et sont à manipuler en appliquant les mesures de protection nécessaires (p. ex. éviter d'avaler ou d'inhaler).
- La température peut influencer les résultats du test.
- Le matériel utilisé pour la réalisation des tests doit être éliminé selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Le test NADAL® HAV IgG/IgM s'effectue sur des échantillons de sang total (par ponction veineuse ou du doigt), de sérum ou de plasma.

Échantillons de sang total par ponction du doigt

- Laver la main du patient au savon et à l'eau tiède ou la désinfecter avec un tampon imprégné d'alcool. La laisser sécher.
- Masser la main sans toucher le point de ponction en frottant la main vers le haut du majeur ou de l'annulaire.
- Piquer la peau avec une lancette stérile. Essuyer la première goutte de sang.
- Frotter doucement la main du poignet vers la paume jusqu'au doigt, de sorte qu'une goutte de sang se forme sur le point de ponction.

Les échantillons de sang total par ponction du doigt doivent être analysés immédiatement.

Échantillons de sang total par ponction veineuse

Afin de prélever des échantillons de sang total ou de plasma par ponction veineuse, utiliser des récipients collecteurs contenant des anticoagulants, tels que EDTA de sodium, citrate de sodium ou héparine de sodium.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée.

Si le test est effectué dans les 24 heures suivant le prélèvement, le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé entre 2°C et 8°C.

Ne pas congeler les échantillons de sang total.

Échantillons de sérum et de plasma

Séparer le sérum ou le plasma du sang dès que possible pour éviter l'hémolyse. Utiliser exclusivement des échantillons purs et non hémolysés.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée. Les échantillons de sérum et de plasma peuvent être conservés jusqu'à 5 jours entre 2°C et 8°C. Pour une conservation plus longue, les échantillons doivent être conservés à une température de -20°C.

Avant de commencer le test, amener les échantillons à température ambiante. Les échantillons congelés doivent être complètement décongelés et soigneusement mélangés avant la réalisation du test. Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

Si des échantillons doivent être expédiés, veiller à les emballer conformément aux réglementations en vigueur concernant le transport des agents pathogènes étiologiques.

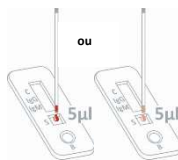
Des échantillons icteriques, lipémiques, hémolytiques, traités thermiquement ou contaminés peuvent fausser les résultats du test.

9. Procédure du test

Amener tous les tests, échantillons, tampons et/ou contrôles à température ambiante (entre 15°C et 30°C) avant la réalisation du test.

1. Retirer la cassette de son emballage et réaliser le test rapidement. Les meilleurs résultats sont obtenus si le test est exécuté immédiatement après ouverture de l'emballage. Inscrive sur la cassette le numéro d'identification du patient ou du contrôle.
2. Placer la cassette sur une surface propre et plane.
3. Tenir le tube capillaire à la verticale, aspirer ainsi l'échantillon (sang total/sérum/plasma) jusqu'à la ligne de remplissage (env. 5 µL) et le déposer dans le puits de dépôt (S) de la cassette.

Une micropipette (5 µL) peut également être utilisée.



Éviter la formation de bulles d'air dans le puits de dépôt (S) et ne pas déposer de solution dans la fenêtre de lecture des résultats.

4. Tenir le flacon de solution tampon à la verticale et ajouter 2 gouttes de tampon (env. 60 à 80 µL) dans le puits de dépôt (B) de la cassette.

Éviter la formation de bulles d'air dans le puits de dépôt (B) et ne pas déposer de solution dans la fenêtre de lecture des résultats.



5. Démarrer le chronomètre.

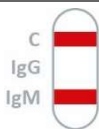
6. Attendre que la/les ligne(s) colorée(s) apparaisse(nt). Interpréter le résultat du test après 15 minutes. Ne plus interpréter le résultat du test après 20 minutes.



10. Interprétation des résultats

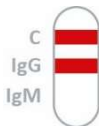
Positif aux IgM :

Une ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle « C ». Une autre ligne colorée apparaît dans la zone de test « IgM ». Le résultat du test indique la présence d'IgM anti-HAV.



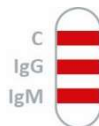
Positif aux IgG :

Une ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle « C ». Une autre ligne colorée apparaît dans la zone de test « IgG ». Le résultat du test indique la présence d'IgG anti-HAV.



Positif aux IgM et IgG :

Une ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle « C ». Une ligne colorée apparaît dans la zone de test « IgM » et une autre dans la zone de test « IgG ». Le résultat du test indique la présence d'IgG et d'IgM anti-HAV.

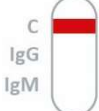


Remarque :

L'intensité de la couleur des lignes de test « IgG » ou « IgM » peut varier en fonction de la concentration d'anticorps anti-HAV présents dans l'échantillon. Par conséquent, toute apparition de couleur dans les zones de test « IgG » ou « IgM » doit être considérée comme un résultat positif. Notez que ce test est uniquement un test qualitatif et qu'il ne peut déterminer la concentration en analytes dans l'échantillon.

Négatif :

Une ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle « C ». Aucune ligne colorée n'apparaît dans les zones de test « IgM » ou « IgG ».



Non valide :

La ligne de contrôle « C » n'apparaît pas. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation impartis doivent être jetés.



Contrôler la procédure d'exécution du test et renouveler le test avec une nouvelle cassette. Si le problème persiste, cesser d'utiliser le kit de test et contacter votre distributeur.

Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

11. Contrôle qualité

La cassette de test contient un contrôle de procédure interne : une ligne colorée apparaissant dans la zone de contrôle « C » est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume de prélèvement est suffisant, que la manipulation a été effectuée correctement et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les *Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL)* recommandent l'utilisation de matériel de contrôle externe afin de vérifier la performance du kit de test.

12. Limites du test

- Le test NADAL® HAV IgG/IgM est réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel. Le test ne doit être utilisé que pour la détection qualitative et la différenciation des IgM et IgG anti-HAV dans des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humains.
- Ce test qualitatif ne permet ni de déterminer la valeur quantitative ni le taux d'augmentation/diminution de la concentration des anticorps anti-HAV.
- La précision du test dépend de la qualité de l'échantillon. Des résultats erronés peuvent résulter d'un prélèvement ou d'un stockage inapproprié de l'échantillon (cf. Chapitre 8 « Recueil, préparation et conservation des échantillons »).
- Certains échantillons présentant des titres anormalement élevés d'anticorps hétérophiles ou de facteurs rhumatoïdes (≥ 1000 UI/mL) peuvent interférer avec les résultats du test.
- Comme pour tous les tests de diagnostic, tous les résultats doivent être évalués en lien avec les autres informations cliniques qui sont à la disposition du médecin.
- Le test NADAL® HAV IgG/IgM indique exclusivement la présence d'anticorps anti-HAV dans l'échantillon et ne peut être employé comme seul critère de diagnostic d'une infection par le HAV.
- Une infection par le HAV peut évoluer rapidement. Si les résultats du test sont négatifs mais que les symptômes cliniques persistent, il est recommandé d'effectuer des tests supplémentaires en utilisant d'autres méthodes cliniques, telles que la PCR ou l'ELISA.
- Un résultat négatif n'exclut à aucun moment une éventuelle exposition au HAV ou une infection aiguë par le HAV. Les échantillons prélevés trop tôt au cours d'une infection peuvent contenir une concentration d'IgM inférieure au seuil de détection de ce test.
- Un test peut s'avérer négatif si le titre des anticorps HAV contenus dans l'échantillon se situe en deçà du seuil de détection du test ou si les anticorps HAV détectés n'étaient pas présents au stade de la maladie auquel le test a été réalisé.
- La présence d'IgG anti-HAV détectables peut être attribuée à des infections et/ou des vaccinations antérieures.

13. Performance du test

Performance clinique

Sensibilité et spécificité diagnostiques

Le test NADAL® HAV IgG/IgM a été évalué avec des échantillons cliniques de plasma dont le statut a été confirmé par ELISA.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants :

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG)	anti-HAV IgG ELISA		
	Positif	Négatif	Total
	125	4	129
	0	71	71
Total	125	75	200

Sensibilité diagnostique : > 99,9 % (97,1 % - 100,0 %)*

Spécificité diagnostique : 94,7 % (86,9 % - 98,5 %)*
 Concordance totale : 98,0 % (95,0 % - 99,5 %)*

*95 % intervalle de confiance

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM)	anti-HAV IgM ELISA		
		Positif	Négatif
	Positif	91	7
	Négatif	5	203
Total		96	210

Sensibilité diagnostique : 94,8 % (88,3 % - 98,3 %)*

Spécificité diagnostique : 96,7 % (93,3 % - 98,7 %)*

Concordance totale : 96,1 % (93,3 % - 98,0 %)*

*95 % intervalle de confiance

Performance avec le panel de séroconversion anti-HAV de Boston Biomedical Inc (BBI)

La performance du test NADAL® HAV IgG/IgM a été évaluée avec le panel de séroconversion anti-HAV de BBI (PHT903). Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Panel de référence BBI : HAV ELISA		Test NADAL® HAV IgG/IgM
Type	Nombre	Concordance
Positif aux IgG HAV	8	8 (100 %)
Négatif aux IgG HAV	2	2 (100 %)
Positif aux IgM HAV	8	8 (100 %)
Négatif aux IgM HAV	2	2 (100 %)

Performances analytiques

Seuil de détection

Le seuil de détection du test NADAL® HAV IgG/IgM est de 70 mUI/mL pour les IgG (NIBSC 97/646).

Spécificité analytique

Réaction croisée

Des échantillons de sérum provenant des maladies infectieuses et des immunomarqueurs suivants (IgG anti-HAV ainsi que IgM anti-HAV négatifs) ont été testés avec le test NADAL® HAV IgG/IgM.

HBV	Malaria
HCV	Tuberculose
HEV	<i>T. pallidum</i>
VIH	Typhus
hCG	ANA
Dengue	HAMA
<i>H. pylori</i>	Facteurs rhumatoïdes (jusqu'à 1000 UI/mL)

Aucune réactivité croisée avec les échantillons n'a été observée lors des tests effectués avec le test NADAL® HAV IgG/IgM.

Substances interférentes

Des échantillons négatifs et faiblement positifs aux IgG anti-HAV et aux IgM anti-HAV ont été mélangés aux substances potentiellement interférentes suivantes et n'ont montré aucune interférence avec le test NADAL® HAV IgG/IgM.

Substance	Concentration
Albumine	60 g/L
Bilirubine	0,2 mg/mL
Créatinine	442 µmol/L
EDTA	3,4 µmol/L
Glucose	55 mmol/L
Hémoglobine	2 g/L

Substance	Concentration
Héparine de sodium	3000 UI/mL
Acide salicylique	4,24 mmol/L
Citrate de sodium	3,4 %

Précision

Répétabilité

La répétabilité a été déterminée en testant 20 reproductions d'échantillons de sérum négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs aux IgG anti-HAV ainsi que d'échantillons de sérum faiblement positifs aux IgM anti-HAV. Les tests ont été réalisés sur une journée, par un opérateur, avec 3 lots de tests NADAL® HAV IgG/IgM sur un même site. Plus de 99 % des échantillons ont été correctement déterminés (20/20 tests corrects par concentration, intervalle de confiance de 95% : 96,4 % - 100 % pour chaque lot). Le test NADAL® HAV IgG/IgM a indiqué une répétabilité admissible.

Reproductibilité

La reproductibilité a été déterminée en testant 2 reproductions d'échantillons de sérum négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs aux IgG anti-HAV ainsi que d'échantillons de sérum faiblement positifs aux IgM anti-HAV. Les tests ont été réalisés sur 5 jours distincts, par 2 opérateurs, avec 3 lots de tests NADAL® HAV IgG/IgM indépendants, sur 3 sites différents. Plus de 99 % des échantillons ont été correctement déterminés (180/180 tests corrects par concentration, intervalle de confiance de 95% : 99,6 % - 100 %). Le test NADAL® HAV IgG/IgM a indiqué une répétabilité admissible.

14. Déclaration d'incidents graves

En cas d'incidents graves liés à la performance du test NADAL® HAV IgG/IgM, veuillez en informer immédiatement nal von minden GmbH et les autorités compétentes. Si possible, ne pas jeter le test utilisé et les composants correspondants du kit de test.

15. Bibliographie

- Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. *Science*. 1973;182:1026-1028.
- Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. *Am Fam Physician*. 2012 Dec 1;86(11):1027-34.
- Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. American Society for Microbiology, Washington DC, 2002
- Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Jan;19(1):63-79.
- Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. *J Infect Dis*, 1995, 171(Suppl 1):S9-S14.

Rev. 0, 2022-05-23 EB

1. Uso previsto

El test NADAL® HAV IgG/IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa y la diferenciación de anticuerpos IgG e IgM contra el virus de la hepatitis A (IgG e IgM anti-VHA) en muestras de sangre completa, suero o plasma humanos. El test está diseñado para ayudar en el diagnóstico de infecciones por VHA activas o pasadas y proporciona un diagnóstico presuntivo inicial (consulte la sección 12 "Limitaciones"). Los resultados positivos deben confirmarse utilizando métodos de test alternativos (como PCR o ELISA) y hallazgos clínicos. El procedimiento de test no está automatizado y no requiere formación ni cualificación especial. El test NADAL® HAV IgG/IgM ha sido diseñado solo para uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

El virus de la hepatitis A (VHA) aislado por primera vez en 1973,¹ es un virus ARN sin envoltura de la familia *Picornaviridae*, género *Hepatitisvirus*. Su transmisión se produce principalmente en serie, de persona a persona, por vía oral-fecal. Sin embargo, el VHA también se puede transmitir por medio de agua contaminada, contacto sexual y drogas de uso ilícito. Tras un período de incubación de aproximadamente 28 días (15-50 días), la enfermedad se caracteriza por una rápida aparición de síntomas. Los signos y síntomas pueden incluir náuseas, vómitos, diarrea, orina oscura, ictericia, fiebre, dolor de cabeza, pérdida de peso y dolor abdominal. La probabilidad de aparición de los síntomas aumenta con la edad. Normalmente, la enfermedad aguda no dura más de 2 meses. No hay diseminación viral crónica ni una etapa crónica de la enfermedad, aunque pueden producirse recurrencias, hepatitis aguda fulminante y otras complicaciones.² Los IgM anti-HAV son detectables en el mismo momento, o antes de la aparición de la enfermedad clínica y desaparecen una vez pasados de 3 a 6 meses. Los IgG anti-VHA aparecen poco después de los IgM, persisten durante años después de la infección y confieren inmunidad de por vida.³ La presencia de IgG anti-VHA y la ausencia de IgM anti-VHA se pueden utilizar para diferenciar entre infecciones pasadas y actuales. Los test de IgM pueden detectar anticuerpos durante un corto período de tiempo en individuos vacunados recientemente contra la Hepatitis A. Sin embargo, las concentraciones bajas detectadas de 4 a 6 meses después de la aparición de la infección no suelen producir un resultado positivo.^{4,5}

3. Principio del test

El test NADAL® HAV IgG/IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa y diferenciación de IgG e IgM anti-VHA en muestras de sangre completa, suero o plasma humanos.

Los IgG antihumanos de ratón y IgM antihumanos de ratón se inmovilizan en las regiones de la línea de test de la membrana marcadas como "IgG" e "IgM", respectivamente.

Durante el test, los IgG anti-VHA y/o IgM anti-VHA, si están presentes en la muestra, se unen a los antígenos del VHA conjugados con partículas coloreadas que recubren la almohadilla de conjugado del casete de test. A continuación, la mezcla migra por acción capilar a lo largo de la membrana e interactúa con los reactivos. Luego, los complejos son capturados por los IgG antihumanos de ratón y los IgM

antihumanos de ratón en las regiones de la línea de test "IgG" e "IgM", respectivamente. La presencia de una línea coloreada en la región de la línea de test "IgG" y/o "IgM" indica un resultado positivo de IgG anti-VHA y/o IgM anti-VHA. La ausencia de una línea coloreada en la región de la línea de test "IgG" y/o "IgM" indica un resultado negativo de IgG anti-VHA y/o IgM anti-VHA.

La formación de una línea coloreada en la región de control "C" sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 30 casetes de test NADAL® HAV IgG/IgM
- 30 tubos capilares (5 µL)
- 1 búfer "Buffer" (6 mL)*
- 1 manual de instrucciones

*que contiene el siguiente conservante: ProClin™ 300: 0,05%.

No se requiere etiquetado de peligro para ProClin™ 300 de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1272/2008 CLP.

5. Materiales adicionales

- Recipientes de recolección de muestras (apropiados para el material de la muestra que se va a analizar)
- Centrífugadora (solo para muestras de suero o plasma)
- Almohadillas con alcohol
- Lancetas (solo para muestras de sangre completa obtenida por punción digital)
- Cronómetro

6. Almacenamiento y estabilidad

Almacene los kits de test a 2-30°C hasta su fecha de caducidad. Los casetes de test se mantienen estables hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Los casetes de test deben permanecer en los envases de aluminio hasta su uso. No congele los kits de test. No utilice los test después de la fecha de caducidad indicada en el envase. Proteja los componentes del kit de test de cualquier contaminación. No utilice los componentes del kit si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo suministrado, recipientes o reactivos puede producir resultados incorrectos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todas las instrucciones de uso antes de realizar el test.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice los componentes del kit de test si el envase original está dañado.
- No utilice el test si el envase de aluminio no contiene bolsa desecante o si la bolsa desecante está dañada dentro del envase de aluminio.
- Los test son de un solo uso.
- No añada muestras en el área de reacción (región de resultados).
- Para evitar la contaminación, no toque el área de reacción (área de resultados).

- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente recolector para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No utilice el búfer si está descolorido o turbio. La decoloración o la turbidez pueden ser un signo de contaminación microbiana.
- No coma, beba o fume en la zona donde se manipulen las muestras y los kits de test.
- Utilice ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos y las directrices estándar para la correcta eliminación de las muestras.
- El kit de test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patógenos transmisibles. Por ello, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y seguir las medidas de seguridad habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La temperatura puede afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

El test NADAL® HAV IgG/IgM se puede realizar utilizando sangre completa (de punción venosa o digital), suero o plasma.

Para recolectar muestras de sangre completa obtenidas por punción digital:

- Lave la mano del paciente con jabón y agua templada o límpiela con una almohadilla con alcohol. Déjela secar.
- Realice un masaje en la mano sin tocar el lugar de la punción, frotándola en dirección a la punta del dedo medio o anular.
- Pinche la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.
- Frote suavemente desde la muñeca hasta la palma de la mano, y después continúe hasta el dedo para producir una gota redonda de sangre en la zona de punción.

Si la sangre completa se ha obtenido por punción digital se debe realizar el test inmediatamente.

Muestras de sangre completa obtenida por punción venosa

Para la preparación de muestras de sangre completa venosa o plasma deben utilizarse recipientes que contengan anticoagulantes, como el EDTA de sodio, el citrato de sodio o la heparina de sodio.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados.

Si el test se va a realizar en los 24 días posteriores a la recolección de las muestras, almacene a 2-8°C la sangre completa obtenida por punción venosa.

No congele las muestras de sangre completa.

Muestras de suero y plasma

Separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Use solo muestras claras no hemolizadas.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8°C hasta un máximo de 5 días. Si desea almacenarlas durante más tiempo, debe mantenerlas a -20°C.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar el test. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y bien mezcladas antes de realizar el test. Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado de muestras.

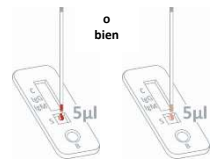
Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones aplicables para el transporte de agentes etiológicos.

Las muestras ictericas, lipémicas, hemolizadas, tratadas térmicamente y contaminadas pueden dar lugar a resultados inexactos en los test.

9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, el búfer y/o los controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar el test.

1. Retire el casete de test de su envase de aluminio y utilícelo lo antes posible. Los mejores resultados se obtendrán si el test se realiza inmediatamente después de abrir el envase. Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control.
2. Coloque el casete de test sobre una superficie limpia y nivelada.
3. Sosteniendo el tubo capilar verticalmente, extraiga la muestra (sangre completa/suero/plasma) hasta la línea de llenado (aproximadamente 5 µL) y agréguela al pocillo de la muestra (S) del casete de test.



Alternativamente, se puede utilizar una micropipeta (5 µL).

Evite la formación de burbujas de aire en el pocillo de muestras (S) y no añada ninguna solución en la región de resultados.



4. Sosteniendo el bote de búfer verticalmente añada 2 gotas (aproximadamente 60-80 µL) del búfer al pocillo del búfer (B).

Evite la formación de burbujas de aire en el pocillo de muestras (B) y no añada ninguna solución en la región de resultados.

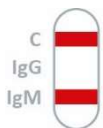
5. Active el cronómetro.
6. Espere a que aparezca la línea/s coloreada/s. Lea los resultados del test a los 15 minutos. No interprete los resultados después de más de 20 minutos.



10. Interpretación del resultado

Positivo para IgM:

Aparece una línea coloreada en la región de control "C". Se desarrolla otra línea coloreada en la región de la línea de test "IgM". El resultado del test indica la presencia de IgM anti-VHA.



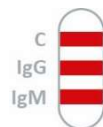
Positivo para IgG:

Aparece una línea coloreada en la región de control "C". Se desarrolla otra línea coloreada en la región de la línea de test "IgG". El resultado del test indica la presencia de IgG anti-VHA.



Positivo para IgM e IgG:

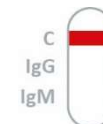
Aparece una línea coloreada en la región de control "C". Se desarrolla una línea coloreada en la región de la línea de test "IgM" y otra en la región de la línea de test "IgG". El resultado del test indica la presencia de IgM e IgG anti-VHA.



Nota: la intensidad del color en las regiones de las líneas de test "IgG" o "IgM" puede variar dependiendo de la concentración de anticuerpos anti-VHA en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de test "IgG" o "IgM" se debe considerar positiva. Recuerde que este test solo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito presente en la muestra.

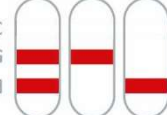
Negativo:

Aparece una línea coloreada en la región de control "C". No se desarrollan líneas coloreadas en las regiones de la línea de test, "IgM" o "IgG".



No válido:

No aparece la línea de control "C". Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar.



Si esto sucede, revise el procedimiento y repita el test con un nuevo casete. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

Se trata de la línea coloreada que aparece en la región de control "C". Confirma un volumen de muestra adecuado, una técnica de procedimiento correcta y que la membrana se ha empapado suficientemente.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)* recomiendan el uso de materiales de control externo para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® HAV IgG/IgM solo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*. El test debe utilizarse para la detección cualitativa y la diferenciación de IgG e IgM anti-VHA en muestras de sangre completa, suero o plasma humano únicamente.
- Este test cualitativo no puede determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento/disminución de la concentración de anticuerpos.
- La precisión del test depende de la calidad de la muestra. Es posible que se produzcan resultados de test inexactos debido a la recolección o el almacenamiento inadecuados de las muestras (consulte el apartado 8, "Recolección y preparación de las muestras").
- Las muestras que contienen cantidades inusualmente altas de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoide, pueden afectar a los resultados esperados.
- Como ocurre con todos los test de diagnóstico, todos los resultados deben ser interpretados por un médico junto con otra información clínica disponible.
- El test NADAL® HAV IgG/IgM solo detecta la presencia de anticuerpos anti-VHA en las muestras y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de una infección por VHA.
- Una infección por VHA puede progresar rápidamente. Si el resultado del test es negativo pero los síntomas clínicos persisten, se recomiendan pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos como PCR o ELISA.
- Un resultado negativo no excluye en ningún momento la posibilidad de exposición o infección aguda por el VHA. Las muestras recolectadas demasiado temprano en el curso de una infección pueden contener niveles de IgM que están por debajo del límite de detección de este test.
- Pueden producirse resultados negativos si la cantidad de anticuerpos anti-VHA presente en la muestra está por debajo del límite de detección del test o si los anticuerpos anti-VHA detectados no estaban presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recolectó la muestra.
- La presencia de IgG anti-VHA detectable puede deberse a infecciones y/o vacunas pasadas.

13. Características del rendimiento

Rendimiento clínico

Sensibilidad y especificidad de diagnóstico

Se evaluó el test NADAL® HAV IgG/IgM utilizando muestras clínicas de plasma cuyo estado se confirmó mediante ELISA.

Los resultados se muestran en las siguientes tablas:

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG)	anti-HAV IgG ELISA		
	Positivo	Negativo	Total
	125	4	129
	0	71	71
Total	125	75	200

Sensibilidad diagnóstica: >99,9% (97,1% - 100,0%)*

Especificidad de diagnóstico: 94,7% (86,9% - 98,5%)*

Concordancia general: 98,0% (95,0% - 99,5%)*

*95% de intervalo de confianza

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

		anti-HAV IgM ELISA		
Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM)		Positivo	Negativo	Total
	Positivo	91	7	98
	Negativo	5	203	208
	Total	96	210	306

Sensibilidad diagnóstica: 94,8% (88,3% - 98,3%)*

Especificidad de diagnóstico: 96,7% (93,3% - 98,7%)*

Concordancia general: 96,1% (93,3% - 98,0%)*

*95% de intervalo de confianza

Rendimiento del panel de seroconversión anti-VHA de Boston Biomedica Inc (BBI)

Se evaluó el rendimiento del test NADAL® HAV IgG/IgM mediante el panel de seroconversión anti-VHA BBI (PHT903). Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

Panel de referencia BBI: VHA ELISA	Test NADAL® HAV IgG/IgM	
Tipo	Número	Concordancia
VHA IgG positivo	8	8 (100%)
VHA IgG negativo	2	2 (100%)
VHA IgM positivo	8	8 (100%)
VHA IgM negativo	2	2 (100%)

Rendimiento analítico

Límite de detección

El límite de detección del test NADAL® HAV IgG/IgM es 70 mUI/mL para IgG (NIBSC 97/646).

Especificidad analítica

Reacciones cruzadas

Se analizaron muestras de suero de las siguientes enfermedades infecciosas e inmunomarcadores (IgG anti-VHA e IgM anti-VHA negativos) utilizando el test NADAL® HAV IgG/IgM.

VHB	Malaria
VHC	Tuberculosis
VHE	<i>T. pallidum</i>
VIH	Fiebre tifoidea
hCG	ANA
Dengue	HAMA
<i>H. pylori</i>	Factores reumatoides (hasta 1000 UI/mL)

No se observaron reacciones cruzadas con las muestras cuando se analizaron con el test NADAL® HAV IgG/IgM.

Sustancias interferentes

Las muestras de IgG anti-VHA negativas y débilmente positivas, así como de IgM anti-VHA enriquecidas con las siguientes sustancias potencialmente interferentes, no mostraron interferencia con el test NADAL® HAV IgG/IgM.

Sustancia	Concentración
Albúmina	60 g/L
Bilirrubina	0,2 mg/mL
Creatinina	442 µmol/L
EDTA	3,4 µmol/L
Glucosa	55 mmol/L
Hemoglobina	2 g/L
Heparina sódica	3000 UI/mL
Ácido salicílico	4,24 mmol/L
Citrato de sodio	3,4%

Precisión

Repetibilidad

Se estableció la repetibilidad analizando 20 réplicas de muestras de suero de IgG anti-VHA negativas, débilmente positivas, medianamente positivas y altamente positivas y de IgM anti-VHA débilmente positivas. Los test fueron realizados por un operador utilizando 3 lotes de test NADAL® HAV IgG/IgM en un sitio en un día. Se identificaron correctamente >99% de las muestras (20/20 test correctos por concentración, intervalo de confianza del 95%: 96,4% - 100% para cada lote). El test NADAL® HAV IgG/IgM demostró una repetibilidad aceptable.

Reproducibilidad

La reproducibilidad se estableció analizando 2 réplicas de muestras de suero con IgG anti-VHA negativas, débilmente positivas, medianamente positivas y altamente positivas y con IgM anti-VHA débilmente positivas. Los test fueron realizados en 2 días diferentes por 3 operadores usando 3 lotes independientes de test NADAL® HAV IgG/IgM en 3 lugares diferentes en 5 días distintos. Se identificaron correctamente >99% de las muestras (180/180 test correctos por concentración, intervalo de confianza del 95%: 99,6% - 100%). El test NADAL® HAV IgG/IgM demostró una reproducibilidad aceptable.

14. Informe de incidente grave

En caso de cualquier incidente grave relacionado con el rendimiento del test NADAL® HAV IgG/IgM, informe inmediatamente a nal von minden GmbH y a la autoridad competente. Si todavía es posible, **no** elimine el test usado y los componentes del kit de test correspondientes.

15. Referencias

- Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. *Science*. 1973;182:1026-1028.
- Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. *Am Fam Physician*. 2012 Dec 1;86(11):1027-34.
- Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. American Society for Microbiology, Washington DC, 2002
- Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis a virus infection: a molecular approach. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Jan;19(1):63-79.
- Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. *J Infect Dis*. 1995, 171(Suppl 1):S9-S14.

Rev. 0, 2022-05-23 MP

1. Uso previsto

Il test NADAL® HAV IgG/IgM è un immunodosaggio cromatografico a flusso laterale per la rilevazione qualitativa e la differenziazione delle IgG e IgM del virus anti-epatite A (anti-HAV IgG e IgM) in campioni di sangue intero, siero o plasma umano. Il test è concepito per l'uso e come supporto nella diagnosi di infezioni HAV attive e/o passate e fornisce una diagnosi iniziale probabile (vedere la sezione 12 'Limiti del Test'). I risultati positivi devono essere confermati usando (un) metodo(i) di test alternativo (come PCR oppure ELISA) e conclusioni cliniche. La procedura di test non è automatizzata e non richiede una formazione o una qualifica speciale. Il test NADAL® HAV IgG/IgM è concepito solo per uso professionale.

2. Introduzione e significato clinico

Isolato per la prima volta nel 1973,¹ l'epatite A (HAV) è un virus RNA senza involucro della famiglia delle *Picornaviridae*, di genere *Hepatovirus*. La sua trasmissione avviene primariamente attraverso trasmissioni seriali da persona a persona per via oro-fecale. Comunque, HAV può essere contratto anche da acqua contaminata, contatto personale ravvicinato, contatto sessuale, e uso illecito di droga. Di seguito a un periodo di incubazione di circa 28 giorni (15-50 giorni), la malattia è caratterizzata da una rapida comparsa dei sintomi. Segni e sintomi possono includere nausea, vomito, urina scura, itterizia, febbre, mal di testa, perdita di peso e dolore addominale. La probabilità dei sintomi aumenta con l'età. Normalmente, la malattia acuta non dura più di due mesi. Non c'è ricambio virale cronico e stadio non cronico della malattia, attraverso ripetizioni, epatiti acute e fulminanti e altre complicazioni possono accadere.² Gli anti-HAV IgM sono rilevati durante o prima della comparsa della malattia clinica e scendono in circa da 3 a 6 mesi. Anti-HAV IgG appaiono subito dopo IgM, persiste per anni dopo il contagio e conferisce un'immunità per tutta la vita.³ La presenza dell'anti-HAV IgG e l'assenza di anti-HAV IgM può essere usata per differenziare infezioni attuali e passate. Analisi IgM possono essere rilevati anticorpi in individui che hanno ricevuto recentemente un vaccino per un breve periodo di tempo. In ogni caso, concentrazioni più basse sono rilevate dai 4 ai 6 mesi dopo la comparsa dell'infezione tipicamente non produce un risultato del test positivo.^{4,5}

3. Principio del test

Il test NADAL® HAV IgG/IgM è un immunodosaggio cromatografico a flusso laterale per l'individuazione qualitativa e differenziazione di anti-HAV IgG e IgM in sangue umano intero, siero oppure campioni di plasma.

IgG anti-umano di topo e IgM anti-umano di topo sono immobilizzati nelle regioni della linea del test della membrana etichettata 'IgG' e 'IgM' rispettivamente.

Durante il test, anti-HAV IgG e/oppure anti-HAV IgM, se presenti nei campioni, legati agli antigeni HAV coniugati alle particelle colorate e pre-rivestiti sul tampone coniugato del test a cassetta. Il composto migra poi lungo la membrana per azione capillare ed interagisce con i componenti della membrana. I complessi sono catturati dai topi anti-umani IgG e topi anti-umani IgM nelle regioni della linea di test 'IgG' e 'IgM' rispettivamente. La presenza di una linea colorata nella regione del test 'IgG' e/oppure 'IgM' indica un anti-HAV IgG

positivo e/oppure un risultato anti-HAV IgM. L'assenza di una linea colorata nella regione del test 'IgG' e/oppure 'IgM' indica un negativo anti-HAV IgG e/oppure un risultato anti-HAV IgM.

La presenza di una linea colorata nella regione della linea di controllo 'C' funge da controllo procedurale indicando che è stato utilizzato il corretto volume di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta.

4. Reagenti e materiali forniti

- 30 test NADAL® HAV IgG/IgM test a cassetta
- 30 tubi capillari (5 µL)
- 1 soluzione tampone "buffer" (6 ml)*
- 1 istruzioni per l'uso

*contenente i seguenti conservanti: ProClin™ 300: 0,05%.

Non è richiesta un'etichettatura per materiali pericolosi per il ProClin™ 300 secondo il regolamento (CE) N° 1272/2008 CLP.

5. Altri materiali richiesti

- Contenitore di raccolta del campione (appropriato per il materiale campione da testare)
- Centrifuga (solo per i campioni di siero oppure plasma)
- Dischetti alcol
- Bisturi (solo per il prelievo di sangue intero mediante puntura del polpastrello)
- Timer

6. Conservazione e stabilità

I kit devono essere conservati a 2-30°C fino alla data di scadenza. I test a cassetta rimangono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione di alluminio. I test a cassetta vanno conservati nella loro confezione di alluminio fino al loro utilizzo. Non congelare i kit di test. Non utilizzare i test oltre la data di scadenza indicata sulla confezione. Fare attenzione a proteggere i componenti del kit del test dalla contaminazione. Non utilizzare le componenti del kit di test in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare all'ottenimento di falsi risultati.

7. Avvertenze e precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di eseguire il test.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare componenti del kit di test se l'imballaggio primario è danneggiato.
- Non utilizzare il test se la confezione di alluminio non contiene una borsa dissecante è danneggiata dentro la confezione di alluminio.
- Test monouso.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Al fine di evitare la contaminazione non toccare l'area di risultato (result area).
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata utilizzando sempre un nuovo test per ogni campione ottenuto.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.

- Non utilizzare la soluzione se questa dovesse risultare scolorita oppure torbida. Sbiadimento o torbidità possono essere indicativi di contaminazione microbica.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i kit di test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- La temperatura può influire negativamente sui risultati dei test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e raccolta del campione

Il test NADAL® HAV IgG/IgM può essere eseguito su campioni di sangue intero (ottenuti tramite prelievo venoso o puntura del polpastrello), siero o plasma.

Prelievo dei campioni di sangue intero tramite puntura del polpastrello:

- Lavare la mano del paziente con sapone ed acqua calda o pulirla con un tampone con alcol. Fare asciugare.
- Massaggiare la mano del paziente senza toccare la zona del prelievo sfregando la mano verso il basso in direzione del dito medio o dell'anulare.
- Incidere la pelle utilizzando un bisturi sterile. Asciugare la prima goccia di sangue.
- Sfregare leggermente la mano del paziente dal polso al palmo fino al dito inciso affinché si formi una nuova goccia di sangue.

I campioni raccolti tramite puntura del polpastrello andrebbero testati immediatamente.

Campioni di sangue intero, prelievo venoso

I contenitori con anticoagulanti, come EDTA, citrato di sodio o eparina di sodio devono essere utilizzati per la preparazione di campioni di sangue intero venoso o di plasma.

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo.

Se il test viene eseguito entro 24 giorni dalla raccolta del campione, il sangue intero raccolto tramite prelievo venoso va conservato a 2-8°C.

Non congelare i campioni di sangue intero.

Campioni di siero e plasma

Separare siero e plasma immediatamente al fine di evitare emolisi. Utilizzare solo campioni chiari non emolizzati.

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo. Campioni di siero e plasma possono essere conservati tra 2-8°C per un massimo di 5 giorni. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C.

Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire il test. I campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati adeguatamente prima di eseguire il test. Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni.

Nel caso in cui si intenda spedire i campioni, questi andrebbero imballati seguendo le regolamentazioni locali in materia di trasporto di agenti eziologici.

I campioni itterici, lipemici, emolizzati, trattati termicamente e contaminati possono portare a risultati imprecisi del test.

9. Procedura del Test

Portare i test, i campioni, le soluzioni e/o controlli a temperatura ambiente (15-30°) prima di eseguire il test.

1. Rimuovere il test a cassetta dalla busta di alluminio e usarla il prima possibile. Si otterranno i risultati migliori se il test viene eseguito immediatamente dopo l'apertura della confezione. Etichettare il test a cassetta con l'identificativo del paziente o controllo.

2. Posizionare il test a cassetta su una superficie piana e pulita.

3. Tenere il tubo capillare verticalmente, riempire i campioni (sangue intero/ siero/ plasma) fino alla linea di riempimento (circa 5 µl) e aggiungerlo al pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta.

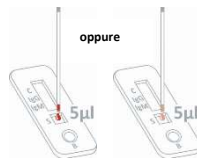
In alternativa, si può utilizzare una micropipetta (5 µl).

Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto di raccolta del campione (S) ed evitare l'aggiunta di qualsiasi soluzione nell'area del risultato.

4. Tenendo il flacone del tampone in verticale, aggiungere 2 gocce (circa 60-80 µl) di tampone al pozzetto tampone (B).

Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto di raccolta (B) ed evitare l'aggiunta di qualsiasi soluzione nell'area del risultato.

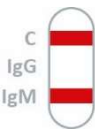
5. Avviare il timer.
6. Attendere la comparsa della linea o linee colorate. Leggere il risultato del test entro 15 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 20 minuti.



10. Interpretazione dei risultati

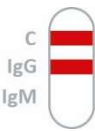
Positivo per IgM:

Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo 'C'. Un'altra linea colorata si sviluppa nella regione della linea del test 'IgM'. Il risultato del test indica la presenza di anti-HAV IgM.



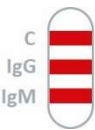
Positivo per IgG:

Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo 'C'. Un'altra linea colorata si sviluppa nella regione della linea del test 'IgG'. Il risultato del test indica la presenza di anti-HAV IgG.



Positivo per IgM e IgG:

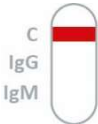
Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo 'C'. Una linea colorata si sviluppa nella regione della linea del test 'IgM' e un'altra si sviluppa nella regione della linea del test 'IgG'. Il risultato del test indica la presenza di anti-HAV IgG ed IgM.



Nota Bene: L'intensità del colore nelle regioni della linea del test 'IgG' o 'IgM' può variare a seconda della concentrazione di anticorpi anti-HAV nei campioni. Pertanto, qualsiasi sfumatura di colore nella regione della linea 'IgG' o 'IgM' va considerato un risultato positivo. Notare che il presente test è esclusivamente un test qualitativo non è in grado di determinare la concentrazione dell'analita nel campione.

Negativo:

Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo 'C'. Nessuna linea colorata si sviluppa nelle regioni della linea di test 'IgM' oppure 'IgG'.



Non valido:

La linea 'C' di controllo non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione.



Si prega di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo del kit di test e contattare il proprio distributore.

Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo 'C' è da considerarsi un controllo procedurale interno positivo. Conferma che è stato utilizzato un volume di campione sufficiente e che sono state applicate tecniche procedurali corrette e un adeguato assorbimento della membrana.

Buone Norme di Laboratorio (GLP) raccomandano l'uso di controlli esterni dei materiali per assicurare la corretta prestazione del kit di test.

12. Limiti del test

- Il test NADAL® HAV IgG/IgM è esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*. Il test deve essere utilizzato per l'individuazione qualitativa e differenziazione anti-HAV IgG e IgM solo in sangue intero umano, siero oppure campioni di plasma.
- Nessun valore quantitativo né il tasso di aumento/diminuzione della concentrazione di anticorpi anti-HAV può essere determinata usando questo test qualitativo.
- L'esattezza del test dipende dalla qualità del campione. Risultati del test inesatti possono accadere a causa della raccolta o conservazione non corretta del campione (vedere sezione 8 'Preparazione e raccolta del campione').
- Alcuni campioni contengono titoli insolitamente alti di anticorpi eterofili oppure fattore reumatoide (≥ 1000 IU/mL) possono influenzare i risultati del test.
- Come per tutti i test di diagnostica, tutti i risultati devono essere interpretati da un medico insieme con altre informazioni cliniche.
- Il test NADAL® HAV IgG/IgM rileva solo la presenza degli anticorpi anti-HAV in campioni che non dovrebbero essere utilizzati come unico criterio per la diagnosi di un'infezione HAV.
- Un'infezione HAV può progredire rapidamente. Se il risultato del test è negativo ma i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire altri test utilizzando altri metodi clinici come PCR o ELISA.
- Un risultato negativo non preclude in qualsiasi momento la possibilità di esposizione ad un'infezione acuta di HAV. I campioni raccolti troppo presto nel corso di un'infezione possono contenere livelli di IgM che sono inferiori ai limiti di rilevazione di questo test.
- Un risultato negativo potrebbe verificarsi se la quantità di anticorpi HAV presenti nel campione è al di sotto dei limiti di rilevazione del test, oppure se gli anticorpi rilevati non erano presenti allo stadio della malattia durante il quale il campione è stato raccolto.
- La presenza di anti-HAV IgG rilevabili può essere dovuta a infezioni e/o vaccini.

13. Caratteristiche Tecniche

Performance clinica

Sensibilità e specificità diagnostica

Il test NADAL® HAV IgG/IgM è stato valutato usando campioni di plasma clinico il cui stato è stato confermato usando ELISA.

I risultati vengono presentati nelle seguenti tabelle:

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG)	anti-HAV IgG ELISA		
	Positivo	Negativo	Totale
	125	4	129
	0	71	71
Totale	125	75	200

Sensibilità diagnostica: >99,9% (97,1% - 100,0%)*

Specificità diagnostica: 94,7% (86,9% - 98,5%)*



Andamento complessivo: 98,0% (95,0% - 99,5%)*
*95% intervallo di confidenza

Test NADAL® HAV Test IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

		anti-HAV IgM ELISA		
Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM)		Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	91	7	98
	Negativo	5	203	208
	Totale	96	210	306

Sensibilità diagnostica: 94,8% (88,3% - 98,3%)*
Specificità diagnostica: 96,7% (93,3% - 98,7%)*
Andamento complessivo: 96,1% (93,3% - 98,0%)*
*95% Intervallo di confidenza

Prestazione nel Boston Biomedica Inc (BBI) pannello di sieroconversione anti-HAV

La prestazione del test NADAL® HAV IgG/IgM è stata valutata usando il pannello di sieroconversione BBI anti-HAV (PHT903). I risultati sono presenti nella tabella seguente:

BBI pannello di riferimento: HAV ELISA		Test NADAL® HAV IgG/IgM
Tipologia	Numero	Accordo
HAV IgG positivo	8	8 (100%)
HAV IgG negativo	2	2 (100%)
HAV IgM positivo	8	8 (100%)
HAV IgM negativo	2	2 (100%)

Prestazioni analitiche

Limiti di rilevazione

Il limite di rilevazione del test NADAL® HAV IgG/IgM è 70 mIU/mL per IgG (NIBSC 97/646).

Specificità analitica

Reattività incrociata

I campioni di siero delle seguenti malattie infettive e marcatori immunitari (anti-HAV IgG così come anti-HAV IgM negativo) sono stati testati analizzando il test NADAL® HAV IgG/IgM.

HBV	Malaria
HCV	Tubercolosi
HEV	T.palladium
HIV	Febbre Tifoide
hCG	ANA
Dengue	HAMA
H. pylori	Fattori Reumatoidi (fino a 1000 IU/mL)

Nessuna reattività incrociata con i campioni è stata osservata durante il test NADAL® HAV IgG/IgM.

Sostanze interferenti

Negativo e basso positivo anti-HAV IgG così come campioni anti-HAV IgM culminano con le seguenti sostanze potenzialmente interferenti non hanno mostrato alcuna interferenza con il test NADAL® HAV IgG/IgM.

Sostanza	Concentrazione
Albumina	60 g/L
Bilirubina	0,2 mg/mL
Creatinina	442 µmol/L
EDTA	3,4 µmol/L
Glucosio	55 mmol/l
Emoglobina	2 g/L
Eparina sodica	3000 IU/mL
Acido salicilico	4,24 mmol/l
Citrato di sodio	3,4%

Precisione

Ripetibilità

La ripetibilità è stata stabilita testando 20 repliche di campioni di siero negativi, bassi, medi e altamente positivi anti-HAV IgG e basso positivo anti-HAV IgM siero. I test sono stati effettuati da un operatore usando 3 lotti dei test NADAL® HAV IgG/IgM in un sito uno al giorno. >99% dei campioni è stato identificato correttamente (20/20 test corretti per concentrazione, accuratezza del 95%: 96,4% - 100% per ciascun lotto). Il test NADAL® HAV IgG/IgM dimostrano una ripetibilità accettabile.

Riproducibilità

La riproducibilità è stata stabilita testando 2 repliche di campioni di siero negativi, bassi, medi e altamente positivi anti-HAV IgG e basso positivo anti-HAV IgM. I test sono stati eseguiti da 2 operatori utilizzando 3 lotti di test indipendenti NADAL® HAV IgG/IgM in 3 siti diversi in 5 giorni separati. >99% dei campioni è stato identificato correttamente (180/180 test corretti per concentrazione, accuratezza del 95%: 99,6% - 100%). Il test NADAL® HAV IgG/IgM ha dimostrato una ripetibilità accettabile.

14. Segnalazione di incidenti gravi

In caso di gravi incidenti legati all'esecuzione del test NADAL® HAV IgG/IgM, si prega di informare immediatamente nal von minden GmbH e l'autorità competente immediatamente. Se possibile, **non** smaltire il test utilizzato e i relativi componenti del kit di prova.

15. Bibliografia

1. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. Science. 1973;182:1026-1028.
2. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. Am Fam Physician. 2012 Dec 1;86(11):1027-34.
3. Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, Washington DC, 2002
4. Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis a virus infection: a molecular approach. Clin Microbiol Rev. 2006 Jan;19(1):63-79.
5. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. J Infect Dis, 1995, 171(Suppl 1):S9-S14.

Rev. 0, 2022-05-23 CDL

1. Zastosowanie

Test NADAL® HAV IgG/IgM to chromatograficzny test immunologiczny w formie przepływu bocznego do jakościowego wykrywania i różnicowania IgG i IgM przeciw wirusowi zapalenia wątroby typu A (anty-HAV IgG i IgM) w próbkach ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza. Test jest przeznaczony jako pomoc w diagnozowaniu aktywnych i/lub wcześniejszych zakażeń HAV i zapewnia wstępną diagnozę (patrz punkt 12. "Ograniczenia testu"). Pozytywne wyniki muszą zostać potwierdzone alternatywnymi metodami testowymi (np. PCR lub ELISA) i wynikami klinicznymi. Test nie jest automatyzowany i nie wymaga specjalnego przeszkolenia lub kwalifikacji. Test NADAL® HAV IgG/IgM przeznaczony jest wyłącznie do użytku profesjonalnego.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Wirus Hepatitis-A (HAV) jest bezotoczkowym wirusem RNA, z rodziny *Picornaviridae*, Genus *Hepatovirus*, który po raz pierwszy odizolowany został w roku 1973.¹ Przenoszenie wirusa odbywa się głównie poprzez bezpośredni kontakt z osobą zakażoną drogą fekalno-oralną. Jednak HAV może być również przenoszony przez skażoną wodę, bliski kontakt osobisty, kontakty seksualne i zażywanie nielegalnych substancji. Choroba charakteryzuje się szybkim wystąpieniem objawów po okresie inkubacji wynoszącym około 28 dni (15-50 dni). Mogą występować następujące objawy: nudności, wymioty, biegunka, ciemny mocz, żółtaczka, gorączka, bóle głowy, utrata masy ciała oraz bóle brzucha. Prawdopodobieństwo objawów zwiększa się z wiekiem. W normalnym przypadku, ostra choroba trwa nie dłużej niż dwa miesiące. Nie występuje żadne przewlekłe wydalanie wirusa oraz przewlekłe stadium choroby, chociaż mogą wystąpić nawroty, ostre zapalenie wątroby i inne powikłania.² Anty-HAV IgM są wykrywane w czasie lub przed wystąpieniem objawów klinicznych i zanikają około 3 do 6 miesięcy po infekcji. Anty-HAV IgG pojawiają się krótko po IgM, pozostają przez wiele lat po zakażeniu i powodują nabycie odporności do końca życia.³ Obecność przeciwciał anty-HAV IgG oraz brak przeciwciał anty-HAV IgM mogą być używane do rozróżnienia infekcji przebiegłych w przeszłości, a infekcji występujących obecnie. Testy IgM mogą wykrywać przez krótki czas przeciwciała u osób, którym niedawno podana została szczepionka Hepatitis-A. Jednak niższe stężenia wykryte 4 do 6 miesięcy po rozpoczęciu infekcji zwykle nie prowadzą do pozytywnych wyników testu.^{4,5}

3. Zasada działania testu

Test NADAL® HAV IgG/IgM jest chromatograficznym testem immunologicznym w formie przepływu bocznego do jakościowego wykrywania i różnicowania anty-HAV IgG i IgM w próbkach ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza.

Mysie przeciw ludzkie IgG i mysie przeciw ludzkie IgM są unieruchomione w odpowiednim obszarze linii testowej "IgG" i "IgM" na membranie.

Jeśli IgG i/lub IgM anty-HAV są obecne w próbce, to podczas testu wiążą się z antygenami HAV skoniugowanymi z kolorowymi cząsteczkami wstępnie powleczoneymi na podkładce koniugatu kasety testowej. Mieszanka wędruje następnie przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany i zachodzi w interakcję z odczynnikami znajdującymi się na

membranie. Kompleksy są następnie wychwytywane przez mysie przeciw ludzkie IgG i mysie przeciw ludzkie IgM odpowiednio w obszarach linii testowej "IgG" i "IgM". Obecność kolorowej linii w obszarze linii testowej "IgG" i/lub "IgM" wskazuje na pozytywny wynik anty-HAV IgG i/lub anty-HAV IgM. Brak kolorowej linii w obszarze linii testowej "IgG" i/lub "IgM" wskazuje na ujemny wynik anty-HAV IgG i/lub anty-HAV IgM.

Pojawienie się kolorowej linii w obszarze linii kontrolnej „C” służy jako kontrola procesu i wskazuje, że dodano wystarczającą objętość próbki i że membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 30 testów kasetowych NADAL® HAV IgG/IgM
- 30 kapilar (5 µl)
- 1 bufor „Buffer” (6 mL)*
- 1 instrukcja obsługi

*zawiera następujący konserwant: ProClin™ 300: 0,05%.

Zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr. 1272/2008 CLP, nie jest wymagane oznakowanie zagrożenia dla ProClin™ 300.

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemnik do pobierania próbek (odpowiedni do badanego materiału próbki)
- Centryfuga (tylko dla próbek surowicy i osocza)
- Waciki alkoholowe
- Nakłuwacze (tylko dla próbek z krwi pełnej z nakłucia palca)
- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe powinny być przechowywane w temperaturze 2-30°C, do daty podanej na opakowaniu. Testy kasetowe są stabilne do daty użyteczności podanej na opakowaniu foliowym. Kaseta testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać zestawów testowych. Test i komponenty testu należy chronić przed kontaminacją. Testu nie należy używać przy oznakach mikrobiologicznej kontaminacji lub wytrąceniu. Biologiczne zanieczyszczenie urządzeń dozujących, zbiorników lub próbek, może prowadzić do błędnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać żadnych części zestawu testowego, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać testu, jeśli opakowanie foliowe nie zawiera szaszki ze środkiem osuszającym lub jeśli szaszka ze środkiem osuszającym w opakowaniu foliowym jest uszkodzona.
- Testy są przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Nie dawać próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).

- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej probówki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie używać bufora, jeśli pojawiła się zmiana koloru lub zmętnienie. Przebarwienia lub zmętnienie mogą być oznaką zanieczyszczenia mikrobiologicznego.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procedur jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Ten zestaw testowy zawiera wyroby pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności np. unikać połknięcia lub wdychania.
- Temperatury mogą wpływać na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Test NADAL® HAV IgG/IgM może być przeprowadzony z krwi pełnej (z nakłucia żylnego lub palca), surowicy lub osocza.

Pobieranie krwi pełnej z nakłucia palca

- Umyć dłoń pacjenta przy pomocy mydła i ciepłej wody, a następnie przemyć wacikiem nasączonym alkoholem. Pozostawić do osuszenia.
- Masować dłoń, nie dotykając przy tym miejsca nakłucia, pocierając dłoń w kierunku opuszka palca środkowego lub serdecznego.
- Nakłuć skórę przy pomocy sterylnego nakłuwacza. Wytrząść pierwszą kroplę krwi.
- Delikatnie pocierać dłoń od nadgarstka do powierzchni dłoni i palca, aby w punkcie nakłucia wytworzyła się okrągła kropla.

Próbki krwi pełnej z palca powinny być przebadane bezpośrednio.

Próbki krwi pełnej z nakłucia żyły.

Do przygotowania próbek pełnej krwi żyłnej lub osocza należy używać pojemników do pobierania próbek zawierających antykoagulanty, takie jak EDTA, cytrynian sodu lub heparyna sodowa.

Przeprowadzenie testu powinno nastąpić bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy okres czasu.

Krew żylną należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, jeśli badanie jest wykonywane w ciągu 24 godzin od pobrania próbki.

Nie zamrażać próbek z krwi pełnej.

Próbki surowicy i osocza

Jak najszybciej rozdzielić surowicę lub osocze z krwi, w celu uniknięcia hemolizy. Używać wyłącznie przejrzystych i niehemolitycznych próbek.

Przeprowadzenie testu powinno nastąpić bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy okres czasu. Probki surowicy/osocza mogą być przechowywane przy temperaturze 2-8°C do 5 dni. W przypadku dłuższego przechowywania próbki powinny być przechowywane w temperaturze -20°C.

Doprowadzić próbki do temperatury pokojowej przed badaniem. Zamrożone próbki powinny zostać całkowicie rozmrożone i dobrze wymieszane, przed rozpoczęciem testu. Probki nie mogą być ponownie zamrażane i rozmrażane.

Jeśli próbki mają zostać wysłane, te powinny być zapakowane zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi transportu patogenów etiologicznych.

Ikteryczne, lipemiczne, hemolityczne, obrabiane ciepłem i zanieczyszczone próbki, mogą prowadzić do fałszywych wyników testu.

9. Przeprowadzanie testu

Przed przeprowadzeniem testu, doprowadzić wszystkie testy, próbki i/albo kontrole do temperatury pokojowej (15-30°C).

1. Wyciągnąć kasetę testową z opakowania foliowego i użyć ją tak szybko, jak to możliwe. Najlepsze wyniki zostają osiągnięte, gdy test przeprowadzony zostaje bezpośrednio po jego otwarciu. Oznaczyć kasetę testową danymi pacjenta oraz identyfikacją kontrolną.
2. Kasetę testową położyć na czystą i równą powierzchnię.
3. Trzymać kapilarę pionowo, pobrać nią próbkę (krew pełna/surowica/osocze) do linii napełnienia (ok. 5 µl) i umieścić próbkę w zagłębieniu na próbkę (S) na kasiecie testowej.

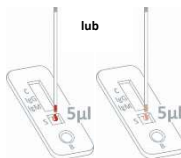
Alternatywnie można zastosować mikropipetę (5 µl).

Unikać wytwarzania się pęcherzyków powietrza w zagłębieniu na próbkę (S) oraz nie aplikować roztworu do pola wyników.

4. Trzymać butelkę z buforem pionowo i dodać 2 krople (ok. 60-80 µl) buforu do zagłębienia na bufor (B) na kasiecie testowej.

Unikać wytwarzania się pęcherzyków powietrza w zagłębieniu na bufor (B) oraz nie aplikować roztworu do pola wyników.

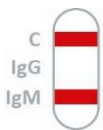
5. Włączyć stoper.
6. Początek na pojawienie się kolorowej/owych linii. Wynik należy interpretować po upływie 15 minut. Po upływie więcej jak 20 minut nie interpretować wyniku.



10. Interpretacja wyników

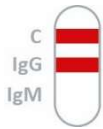
Pozytywny dla IgM:

Pojawia się kolorowa linia w obszarze linii kontrolnej „C”. Kolejna kolorowa linia pojawia się w obszarze linii testowej „IgM”. Wynik testu wskazuje na obecność IgM anty-HAV.



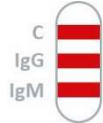
Pozytywny dla IgG:

Pojawia się kolorowa linia w obszarze linii kontrolnej „C”. Kolejna kolorowa linia pojawia się w obszarze linii testowej „IgG”. Wynik testu wskazuje na obecność IgG anty-HAV.



Pozytywny dla IgM i IgG:

Pojawia się kolorowa linia w obszarze linii kontrolnej „C”. Kolorowa linia pojawia się w obszarze linii testowej IgM, a druga w obszarze linii testowej IgG. Wynik testu wskazuje na obecność anty-HAV IgG i IgM.

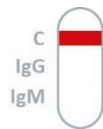


Wskazówka:

Intensywność koloru w obszarze linii testowej "IgG" lub "IgM" może się różnić w zależności od stężenia przeciwciał anty-HAV obecnych w próbce. Dlatego każdy odcień w obszarze linii testowej „IgG” lub „IgM” należy uznać za wynik pozytywny. Należy mieć na uwadze, że nie jest to test jakościowy i nie można nim określać stężenia analitów w próbce.

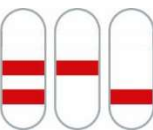
Negatywny:

Pojawia się kolorowa linia w obszarze linii kontrolnej „C”. W obszarach linii testowych „IgM” lub „IgG” nie pojawiają się żadne kolorowe linie.



Nieważny:

Linia kontrolna „C” nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone.



Należy sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniej przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

11. Kontrola jakości

Test kasetyowy zawiera wewnętrzną kontrolę procesową: pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany. Dobra praktyka laboratoryjna zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczania poprawnej wydajności zestawu testowego.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® HAV IgG/IgM jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnego użytku w diagnostyce *in-vitro*. Test powinien być stosowany wyłącznie do jakościowego wykrywania i różnicowania IgG i IgM anty-HAV w próbkach ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza.
- Za pomocą tego testu jakościowego nie można określić ani wartości ilościowej, ani tempa wzrostu/spadku stężenia przeciwciał przeciw HAV.
- Dokładność testu zależna jest od jakości próbki. Nieprawidłowe wyniki mogą wynikać z niewłaściwego pobierania lub przechowywania próbek (patrz punkt 8. „Pobieranie, przygotowanie i przechowywanie próbek”).
- Niektóre próbki z niezwykle wysokimi mianami przeciwciał heterofilnych lub czynników reumatoidalnych (≥ 1000 IU/mL) mogą zakłócać wyniki testu.
- Podobnie jak w przypadku innych testów diagnostycznych, wszystkie wyniki powinny być oceniane w kontekście dodatkowych informacji klinicznych dostępnych dla lekarza.
- Test NADAL® HAV IgG/IgM wykazuje jedynie obecność przeciwciał anty-HAV w próbce i nie powinien być stosowany jako jedyne kryterium rozpoznania zakażenia HAV.
- Zakażenie HAV może szybko postępować. Jeśli wynik testu jest ujemny, ale objawy kliniczne utrzymują się, zaleca się przeprowadzenie dodatkowych testów przy użyciu innych metod klinicznych, takich jak PCR lub ELISA.
- Ujemny wynik nie wyklucza możliwej ekspozycji na HAV lub ostrego zakażenia HAV w dowolnym momencie. próbki pobrane zbyt wcześnie w przebiegu infekcji mogą zawierać stężenie IgM, które jest poniżej granicy wykrywalności tego testu.
- Negatywny wynik testu może wystąpić, jeśli miano przeciwciał HAV obecnych w próbce jest poniżej granicy wykrywalności testu lub jeśli wykryte przeciwciała HAV nie były obecne w stadium choroby, w którym pobrano próbkę.
- Obecność wykrywalnych IgG anty-HAV można przypisać wcześniejszym infekcjom i/lub szczepieniom.

13. Charakterystyka testu

Właściwości kliniczne

Czułość i swoistość diagnostyczna

Test NADAL® HAV IgG/IgM został oceniony na podstawie klinicznych próbek osocza, których status został potwierdzony testem ELISA.

Wyniki przedstawiono w poniższych tabelach.

Test NADAL® HAV IgG/IgM Test (IgG) vs. ELISA

		anty-HAV IgG ELISA		
Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG)		Pozytywny	Negatywny	Suma
	Pozytywny	125	4	129
	Negatywny	0	71	71
Suma		125	75	200

Czułość diagnostyczna: >99,9% (97,1% - 100,0%)*

Swoistość diagnostyczna: 94,7% (86,9% - 98,5%)*

Ogólna zgodność: 98,0% (95,0% - 99,5%)*

*95% przedział ufności

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

		anty-HAV IgM ELISA		
Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM)		Pozytyw- ny	Negatyw- ny	Suma
	Pozytyw- ny	91	7	98
	Negatyw- ny	5	203	208
	Suma	96	210	306

Czułość diagnostyczna: 94,8% (88,3% - 98,3%)*

Swoistość diagnostyczna: 96,7% (93,3% - 98,7%)*

Ogólna zgodność: 96,1% (93,3% - 98,0%)*

*95% przedział ufności

Wydajność z panelem serokonwersji anty-HAV firmy Boston Biomedica Inc (BBI)

Wydajność testu NADAL® HAV IgG/IgM została oceniona przy użyciu panelu serokonwersji BBI Anti-HAV (PHT903). Wyniki przedstawione zostały w poniższej tabeli:

Panel referencyjny BBI: HAV ELISA		Test NADAL® HAV IgG/IgM
Typ	Ilość	Zgodność
HAV IgG pozytywny	8	8 (100%)
HAV IgG negatywny	2	2 (100%)
HAV IgM pozytywny	8	8 (100%)
HAV IgM negatywny	2	2 (100%)

Właściwości analityczne

Granica wykrywalności

Granica wykrywalności testu NADAL® HAV IgG/IgM wynosi 70 mIU/mL dla IgG (NIBSC 97/646).

Swoistość analityczna

Reakcje krzyżowe

Próbki surowicy z następujących chorób zakaźnych i immuno-markerów (anty-HAV IgG oraz anty-HAV IgM ujemne) zostały przebadane testem NADAL® HAV IgG/IgM.

HBV	Malaria
HCV	Gruźlica
HEV	<i>T. pallidum</i>
HIV	Tyfus
hCG	ANA
Denga	HAMA
<i>H. pylori</i>	Czynnik reumatoidalne (do 1000 IU/mL)

Podczas testowania za pomocą testu NADAL® HAV IgG/IgM nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej z próbkami.

Substancje interferujące

Ujemne i słabo dodatnie próbki anty-HAV IgG i anty-HAV IgM zostały wzbogacone następującymi potencjalnie zakłócającymi substancjami i nie wykazały interferencji z testem NADAL® HAV IgG/IgM.

Substancja	Stężenie
Albumina	60 g/L
Bilirubina	0,2 mg/mL
Kreatynina	442 µmol/L
EDTA	3,4 µmol/L
Glukoza	55 mmol/L
Hemoglobina	2 g/L

Substancja	Stężenie
Heparyna sodowa	3000 IU/mL
Kwas salicylowy	4,24 mmol/L
Cytrynian sodu	3,4%

Precyzyjność

Powtarzalność

Powtarzalność została określona poprzez przetestowanie 20 powtórzeń ujemnych, słabo, średnio i silnie dodatnich IgG anty-HAV i słabo dodatnich IgM anty-HAV próbek surowicy. Testy zostały przeprowadzone jednego dnia przez jednego użytkownika z 3 partiami testów NADAL® HAV IgG/IgM w jednym miejscu. >99% próbek zostało prawidłowo oznaczonych (20/20 prawidłowych testów na stężenie, 95% przedział ufności: 96,4% - 100% dla każdej partii). Test NADAL® HAV IgG/IgM wykazał akceptowalną powtarzalność.

Odtwarzalność

Odtwarzalność została określona poprzez testowanie 2 powtórzeń ujemnych, słabo, umiarkowanie i silnie dodatnich IgG anty-HAV, jak również słabo dodatnich IgM anty-HAV próbek surowicy. Testy zostały przeprowadzone w 5 różnych dniach przez 2 użytkowników z 3 niezależnymi partiami testów NADAL® HAV IgG/IgM w 3 lokalizacjach. >99% próbek zostało oznaczonych poprawnie (180/180 prawidłowe testy na stężenie, 95% przedział ufności: 99,6% - 100%). Test NADAL® HAV IgG/IgM wykazał akceptowalną odtwarzalność.

14. Powiadomienie o poważnych incydentach

W przypadku poważnych incydentów związanych z wykonaniem testu NADAL® HAV IgG/IgM, należy niezwłocznie poinformować nal von minden GmbH i właściwy organ. Jeśli to możliwe, **nie wyrzucać** użytego testu i odpowiednich części zestawu testowego.

15. Bibliografia

1. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. Science. 1973;182:1026-1028.
2. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. Am Fam Physician. 2012 Dec 1;86(11):1027-34.
3. Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, Washington DC, 2002
4. Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach. Clin Microbiol Rev. 2006 Jan;19(1):63-79.
5. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. J Infect Dis, 1995, 171(Suppl 1):S9-S14.

Rev. 0, 2022-05-23 AM

1. Uso previsto

O teste NADAL® HAV IgG/IgM é um imunoensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa e diferenciação de IgM anti-vírus hepatite A e IgM (IgG e IgM anti-HAV) em todas as amostras humanas de sangue, soro e plasma. O teste foi concebido para utilizar como auxílio no diagnóstico de infeções ativas e/ou passadas por HAV e fornece um presumível diagnóstico inicial (ver secção 12 'Limitações'). Resultados positivos devem ser confirmados utilizando (um) método(s) de teste alternativo(s) (como PCR ou ELISA) e conhecimentos clínicos. O procedimento de teste não é automatizado e não requer formação ou qualificação especial. O teste NADAL® HAV IgG/IgM é concebido apenas para uso profissional.

2. Introdução e significado clínico

Primeiramente isolado em 1973,¹ o vírus hepatite A (HAV) é um vírus de RNA não encapsulado da família *Picornaviridae*, género *Hepatovirus*. A sua transmissão ocorre principalmente através da transmissão em série de pessoa para pessoa através da via oral-fecal. No entanto, o HAV pode também ser contraído a partir de água contaminada, contacto pessoal íntimo, contacto sexual e uso ilícito de estupefacientes. Seguindo um período de incubação de aproximadamente 28 dias (15-50 dias), a infeção é caracterizada por um início rápido de sintomas. Sinais e sintomas podem incluir náuseas, vômitos, diarreia, urina escura, icterícia, febre, dores de cabeça, perda de peso e dor abdominal. A probabilidade dos sintomas aumenta com a idade. Normalmente, a doença aguda não dura mais do que dois meses. Não existe excreção viral crónica nem estado crónico da doença, apesar de poderem ocorrer recaídas, hepatites agudas fulminantes e outras complicações.² IgM anti-HAV são detetáveis durante ou antes da doença clínica se instalar e diminuem em aproximadamente 3 a 6 meses. IgG anti-HAV aparecem pouco após os IgM, persistem por anos após a infeção e conferem imunidade vitalícia.³ A presença de IgG anti-HAV e a ausência de IgM anti-HAV pode ser utilizada para diferenciar entre infeções passadas e atuais. Ensaios de IgM podem detetar anticorpos em indivíduos aos quais tenham sido recentemente administrada a vacina de hepatite A por um breve período. No entanto, baixas concentrações detetadas entre 4 a 6 meses após o início da infeção, tipicamente não apresentam um resultado de teste positivo.^{4,5}

3. Princípio do teste

O teste NADAL® HAV IgG/IgM é um imunoensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa e diferenciação de IgG e IgM anti-HAV em todas as amostras humanas de sangue, soro ou plasma.

IgM de rato anti-humanos e IgG de rato anti-humanos são imobilizadas nas regiões da linha de teste da membrana identificadas como 'IgM' e 'IgG' respetivamente.

Durante o teste, IgG anti-HAV e/ou IgM anti-HAV, se presentes na amostra, ligam-se aos antígenos HAV conjugados com partículas coloridas e pré-revestidas na almofada conjugada da cassette de teste. A mistura migra então ao longo da membrana por ação capilar e interage com os reagentes na membrana. Os complexos são depois capturados pelo IgG de rato anti-humanos e IgM de rato anti-humanos nas regiões da

linha de teste 'IgG' e 'IgM' respetivamente. A presença de uma linha colorida na região da linha de teste 'IgG' e/ou 'IgM' indica um resultado positivo para IgG anti-HAV e/ou IgM anti-HAV. A ausência de uma linha colorida na região da linha de teste 'IgG' e/ou 'IgM' indica um resultado negativo para IgG anti-HAV e/ou IgM anti-HAV.

A formação de uma linha colorida na região da linha de controlo 'C' funciona como um procedimento de controlo, indicando que uma quantidade adequada de amostra foi adicionada e ocorreu absorção da membrana.

4. Reagentes e materiais fornecidos

- 30 cassetes de teste NADAL® HAV IgG/IgM
- 30 tubos capilares (5 µL)
- 1 solução tampão „Buffer“ (6 mL)*
- 1 folheto informativo

* contém o seguinte conservante: ProClin™ 300: 0,05%.

Não é necessária rotulagem de perigo para ProClin™ 300 de acordo com o Regulamento (CE) Nº 1272/2008 CLP.

5. Materiais adicionais necessários

- Recipientes de recolha de amostra (apropriados ao material a testar)
- Centrífuga (apenas para amostras de soro ou plasma)
- Toalhetas desinfetantes com álcool
- Lancetas (apenas para amostras de sangue por punção no dedo)
- Cronómetro

6. Armazenamento e estabilidade

Os kits de teste devem ser armazenados entre 2-30°C até ao fim da data de validade indicada. As cassetes de teste são estáveis até à data de validade impressa no invólucro. As cassetes de teste devem permanecer seladas no invólucro até serem utilizadas. Não congelar o kit de teste. Não utilizar os testes após a data de validade indicada na embalagem. Cuidados devem ser tomados de modo a proteger os componentes do kit de teste de contaminações. Não utilizar os componentes do kit de teste se existirem evidências de contaminação microbiana ou precipitação. A contaminação biológica do equipamento dispensador, recipientes ou reagentes podem originar resultados imprecisos.

7. Avisos e precauções

- Apenas para uso profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Ler atentamente todas as instruções antes de realizar o teste.
- Não utilizar o teste após a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilizar os componentes do kit de teste se a embalagem principal estiver danificada.
- Não utilizar o teste se o invólucro não contiver um saco dessecante ou se o saco dessecante estiver danificado dentro do invólucro.
- Os testes são de utilização única.
- Não adicionar amostra à área de reação (área de resultado).
- De modo a evitar contaminação, não tocar na área de reação (área de resultado).

- Evitar contaminação cruzada de amostras utilizando um novo recipiente de recolha de amostra para cada amostra recolhida.
- Não substituir ou misturar componentes de diferentes kits de teste.
- Não utilizar a solução tampão se estiver sem cor ou turva. A descoloração ou turvação pode ser sinal de contaminação microbiana.
- Não comer, beber ou fumar na área onde as amostras e os kits de teste são manuseados.
- Utilizar vestuário de proteção como batas, luvas descartáveis e proteção ocular enquanto as amostras estiverem a ser analisadas.
- Manusear todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Observar as precauções estabelecidas para perigos microbiológicos ao longo do procedimento e os procedimentos padrão para o correto descarte das amostras.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. Conhecimento certificado da origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. É por isso recomendado que estes produtos devam ser tratados como potencialmente infecciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança habituais (por exemplo, não ingerir ou inalar).
- A temperatura pode afetar adversamente os resultados do teste.
- Os materiais de teste utilizados devem ser descartados de acordo com as regulamentações locais.

8. Colheita de amostra e preparação

O teste NADAL® HAV IgG/IgM pode ser utilizado com sangue (obtido por punção venosa ou por punção no dedo), soro ou plasma.

Para recolher amostras de sangue por punção no dedo:

- Lavar as mãos do paciente com sabão e água quente ou limpar com toalhitas desinfetantes com álcool. Deixar secar.
- Massajar a mão, sem tocar no local de punção, esfregando ao longo da mão em direção à ponta do dedo médio ou anelar.
- Puncionar a pele com uma lanceta esterilizada. Limpar a primeira gota de sangue.
- Gentilmente esfregar a mão do pulso para a palma, e depois para o dedo para formar uma gota de sangue no local de punção.

Sangue obtido por punção no dedo deve ser testado imediatamente.

Amostras de sangue por punção venosa

Recipientes que contém anticoagulantes, como EDTA, citrato de sódio ou heparina de sódio devem ser utilizados para a preparação de amostras de sangue venoso ou plasma.

O teste deve ser realizado imediatamente após a recolha da amostra. Não deixar as amostras à temperatura ambiente por longos períodos.

Se o teste for realizado dentro de 24 horas após a recolha da amostra, o sangue obtido através de punção venosa deve ser armazenado entre 2-8°C.

Não congelar as amostras de sangue.

Amostras de soro e plasma

Separar o soro ou o plasma do sangue logo que possível para evitar hemólise. Utilizar apenas amostras limpas e não hemolisadas.

O teste deve ser realizado imediatamente após a recolha da amostra. Não deixar as amostras à temperatura ambiente por longos períodos. As amostras de soro e plasma podem ser armazenadas entre 2-8°C até 5 dias. Para um longo período de armazenamento, as amostras devem ser armazenadas a -20°C.

Colocar as amostras à temperatura ambiente antes de testar. Amostras congeladas devem ser completamente descongeladas, bem e cuidadosamente misturadas antes de serem testadas. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.

Se as amostras tiverem de ser enviadas, devem ser embaladas de acordo com a regulamentação aplicável para o transporte de agentes etiológicos.

As amostras ictericas, lipémicas, hemolisadas, tratadas termicamente e contaminadas podem conduzir a resultados de teste imprecisos.

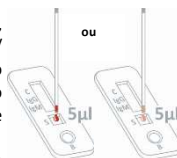
9. Procedimento do teste

Colocar os testes, amostras, solução tampão e/ou controlos à temperatura ambiente (15-30°C) antes de testar.

1. Remover a cassete de teste do invólucro e usar logo que possível. Melhores resultados serão obtidos se o teste for realizado imediatamente após abrir o invólucro. Rotular a cassete de teste com a identificação do paciente ou de controlo.

2. Colocar a cassete de teste numa superfície limpa e nivelada.

3. Segurar o tubo capilar verticalmente, colocar a amostra (sangue/ soro/ plasma) até a linha de preenchimento (aproximadamente 5 µL) e adicionar ao poço de amostra (S) da cassete de teste.



Alternativamente, uma micropipeta (5 µL) pode ser utilizada.

Evitar a retenção de bolhas no poço de amostra (S) e não adicionar qualquer solução à área de resultado.

4. Segurar o recipiente de solução tampão verticalmente, adicionar 2 gotas (aproximadamente 60-80 µL) de solução tampão no poço de solução tampão (B).



Evitar a retenção de bolhas no poço de solução tampão (B) e não adicionar nenhuma solução na área de resultado.

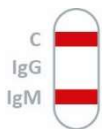
5. Iniciar o cronómetro.
6. Esperar para a(s) linha(s) colorida(s) aparecer(em). Ler o resultado de teste após 15 minutos. Não interpretar o resultado após 20 minutos.



10. Interpretação de resultados

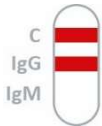
Positivo para IgM:

Uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de controlo 'C'. Outra linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'IgM'. O resultado do teste indica a presença de IgM anti-HAV.



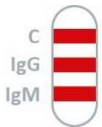
Positivo para IgG:

Uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de controlo 'C'. Outra linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'IgG'. O resultado do teste indica a presença de IgG anti-HAV.



Positivo para IgM e IgG:

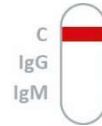
Uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de controlo 'C'. Uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'IgM' e outra desenvolve-se na região da linha de teste 'IgG'. O resultado de teste indica a presença de IgM e IgG anti-HAV.



Nota: A intensidade de cor nas regiões da linha de teste 'IgG' ou 'IgM' podem variar dependendo da concentração de anticorpos anti-HAV na amostra. Deste modo, qualquer sombra de cor na região da linha de teste 'IgG' ou 'IgM' deve ser considerada positiva. Note-se que este é apenas um teste qualitativo e não pode determinar a concentração de analito na amostra.

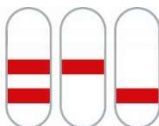
Negativo:

Uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de controlo 'C'. Não se desenvolvem linhas coloridas nas regiões das linhas de teste 'IgM' ou 'IgG'.



Inválido:

A linha de controlo 'C' falha em aparecer. Resultados de qualquer teste que não tenha produzido linha de controlo no tempo de leitura especificado devem ser descartados.



Por favor, reveja o procedimento e repita o teste com uma nova casete de teste. Se o problema persistir, parar imediatamente o uso do kit de teste e contactar o distribuidor local.

Volume de amostra insuficiente, procedimento de operação incorreto ou testes fora do prazo de validade são as razões mais prováveis para a falha no aparecimento da linha de controlo.

11. Controlo de qualidade

O procedimento de controlo interno está incluído na casete de teste:

Uma linha colorida a aparecer na região da linha de controlo 'C' é considerado um procedimento positivo de controlo interno. Isso confirma um volume suficiente de amostra, técnica de procedimento correta e uma absorção adequada da membrana.

Boas Práticas de Laboratório (BPL) recomendam o uso de materiais de controlo externo para assegurar um desempenho adequado dos kits de teste.

12. Limitações

- O teste NADAL® HAV IgG/IgM é apenas para uso profissional de diagnóstico *in-vitro*. O teste deve ser utilizado para a deteção qualitativa e diferenciação de IgG e IgM anti-HAV apenas nas amostras humanas de sangue, soro ou plasma.
- Nem o valor quantitativo, nem as taxas de diminuição/aumento na concentração de anticorpos anti-HAV podem ser determinados utilizando este teste qualitativo.
- A exatidão do teste depende da qualidade da amostra. Podem ocorrer resultados de teste imprecisos devido à recolha ou armazenamento impróprios (ver secção 8 'Colheita de amostra e preparação').
- Algumas amostras contendo marcadores excecionais elevados de anticorpos heterófilos ou fator reumatoide (≥ 1000 IU/mL) podem afetar os resultados de teste.
- Assim como todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados por um médico em conjunto com outra informação clínica disponível.
- O teste NADAL® HAV IgG/IgM apenas deteta a presença de anticorpos anti-HAV em amostras e não devem ser utilizadas como critério único de diagnóstico de infeção por HAV.
- Uma infeção por HAV pode progredir rapidamente. Se o resultado de teste for negativo, mas os sintomas clínicos persistirem, é recomendado testagem adicional utilizando outros métodos clínicos como, PCR ou ELISA.
- Um resultado negativo não exclui em momento algum a possibilidade de exposição ou infeção aguda por HAV. Amostras recolhidas muito cedo no decurso da infeção podem conter níveis de IgM que são abaixo do limite de deteção deste teste.
- Um resultado de teste negativo pode ocorrer se a quantidade de anticorpos HAV presentes na amostra for inferior ao limite de deteção do teste ou se os anticorpos HAV detetados não estiverem presentes durante o estágio da doença em que a amostra foi recolhida.
- A presença de IgG anti-HAV detetáveis pode ser devido a infeções anteriores e/ou vacinação.

13. Características de desempenho

Desempenho clínico

Sensibilidade e especificidade de diagnóstico

O teste NADAL® HAV IgG/IgM foi avaliado utilizando amostras clínicas de plasma cujo estado foi confirmado através de ELISA.

Os resultados são apresentados nas seguintes tabelas:

Teste NADAL® HAV IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Teste NADAL® HAV IgG/IgM (IgG)	IgG anti-HAV ELISA		
		Positivo	Negativo
	Total	125	71
Positivo	Positivo	125	4
	Negativo	0	71
Total	Positivo	125	75
	Negativo	4	71

Sensibilidade de diagnóstico: >99,9% (97,1% - 100,0%)*

Especificidade de diagnóstico: 94,7% (86,9% - 98,5%)*
 Concordância geral: 98,0% (95,0% - 99,5%)*

*95% intervalo de confiança

Teste NADAL® HAV IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

Teste NADAL® HAV IgG/IgM (IgM)	IgM anti-HAV ELISA		
	Positivo	Negativo	Total
	91	7	98
	5	203	208
Total		210	306

Sensibilidade de diagnóstico: 94,8% (88,3% - 98,3%)*
 Especificidade de diagnóstico: 96,7% (93,3% - 98,7%)*
 Concordância geral: 96,1% (93,3% - 98,0%)*

*95% intervalo de confiança

Desempenho do PAINEL de Soroconversão Anti-HAV da Boston Biomedica Inc (BBI)

O desempenho do teste NADAL® HAV IgG/IgM foi avaliada utilizando o Painel de Soroconversão Anti-HAV BBI (PHT903). Os resultados são apresentados na seguinte tabela:

Painel de referência BBI: HAV ELISA		Teste NADAL® HAV IgG/IgM
Tipo	Número	Concordância
IgG HAV positivo	8	8 (100%)
IgG HAV negativo	2	2 (100%)
IgM HAV positivo	8	8 (100%)
IgM HAV negativo	2	2 (100%)

Desempenho analítico

Limite de detecção

O limite de detecção do teste NADAL® HAV IgG/IgM é 70 mIU/mL para IgG (NIBSC 97/646).

Especificidade analítica

Reatividade cruzada

Amostras de soro das seguintes doenças infecciosas e imunomarcadores (IgG anti-HAV assim como IgM anti-HAV negativos) foram testados utilizando o teste NADAL® HAV IgG/IgM.

HBV	Malária
HCV	Tuberculose
HEV	<i>T. pallidum</i>
HIV	Febre tifoide
hCG	ANA
Dengue	HAMA
<i>H. pylori</i>	Fatores reumatóides (até 1000 IU/mL)

Não foi observada reatividade cruzada com as amostras quando testadas utilizando o teste NADAL® HAV IgG/IgM.

Substâncias interferentes

Amostras negativas e baixo positivo de IgG anti-HAV assim como IgM anti-HAV adicionadas com as seguintes potenciais substâncias interferentes não apresentaram interferências com o teste NADAL® HAV IgG/IgM.

Substância	Concentração
Albumina	60 g/L
Bilirrubina	0,2 mg/mL
Creatinina	442 µmol/L
EDTA	3,4 µmol/L
Glucose	55 mmol/L
Hemoglobina	2 g/L

Substância	Concentração
Heparina de sódio	3000 IU/mL
Ácido salicílico	4,24 mmol/L
Citrato de sódio	3,4%

Precisão

Repetibilidade

A repetibilidade foi determinada testando 20 replicados de amostras de soro do tipo negativo, baixo, médio e elevado positivo de IgG anti-HAV e baixo positivo de IgM anti-HAV. O teste foi realizado por um operador utilizando 3 lotes de testes NADAL® HAV IgG/IgM no mesmo local e mesmo dia. >99% das amostras foram corretamente identificadas (20/20 testes corretos por concentração, 95% intervalo de confiança: 96,4% - 100% para cada lote). O teste NADAL® HAV IgG/IgM demonstrou repetibilidade aceitável.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi determinada testando 2 replicados de amostras de soro do tipo negativo, baixo, médio e elevado positivo IgG anti-HAV e baixo positivo IgM anti-HAV. O teste foi realizado por 2 operadores utilizando 3 lotes independentes de teste NADAL® HAV IgG/IgM em 3 locais diferentes e em 5 dias separados. >99% das amostras foram corretamente identificadas (180/180 testes corretos por concentração, 95% intervalo de confiança: 99,6% - 100%). O teste NADAL® HAV IgG/IgM demonstrou reprodutibilidade aceitável.

14. Comunicação de incidentes graves

Em caso de quaisquer incidentes graves relacionados com o desempenho do teste NADAL® HAV IgG/IgM, por favor informe a nal von minden GmbH e a autoridade competente imediatamente. Se ainda for possível, **não** descarte o teste utilizado e os componentes do kit de teste correspondentes.

15. Referências

- Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. Science. 1973;182:1026-1028.
- Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. Am Fam Physician. 2012 Dec 1;86(11):1027-34.
- Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, Washington DC, 2002
- Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach. Clin Microbiol Rev. 2006 Jan;19(1):63-79.
- Stapleton JT. Host Immune response to hepatitis A virus. J Infect Dis, 1995, 171(Suppl 1):S9-S14.

Rev. 0, 2022-05-23 AS

1. Účel použití

Test NADAL® HAV IgG/IgM je imunochromatografický test s laterálním tokem pro kvalitativní detekci a diferenciaci protilátek IgG a IgM proti viru hepatitidy A (protilátky IgG a IgM proti HAV) ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy. Test slouží jako pomůcka ke stanovení diagnózy aktivních a/nebo prodělaných infekcí HAV a poskytuje prvotní předběžnou diagnózu (viz kapitola 12 „Omezení“). Pozitivní výsledek musí být potvrzen alternativní metodou (metodami) testování (např. PCR nebo ELISA) a klinickými nálezy. Provedení testu není automatizované a pro jeho provedení není nutné žádné speciální školení nebo kvalifikace. Test NADAL® HAV IgG/IgM je určen pouze pro profesionální použití.

2. Úvod a klinický význam

Virus hepatitidy A (HAV), poprvé izolovaný v roce 1973,¹ je neobalený RNA virus z čeledi *Picornaviridae*, rodu *Hepatovirus*. K jeho šíření dochází primárně prostřednictvím kontinuálního přenosu z člověka na člověka fekálně-orální cestou. HAV se však lze nakazit také kontaminovanou vodou, blízkým osobním kontaktem, pohlavním stykem a užíváním nelegálních drog. Po inkubační době trvající přibližně 28 dní (15-50 dní) je onemocnění charakterizováno rychlým nástupem příznaků. Mezi příznaky a symptomy patří nevolnost, zvracení, průjem, tmavá moč, žloutenka, horečka, bolesti hlavy, úbytek váhy a bolesti břicha. Pravděpodobnost výskytu příznaků se zvyšuje s věkem. Akutní onemocnění obvykle netrvá déle než dva měsíce. Nedochází k žádnému chronickému vylučování virů ani k chronickému stádiu nemoci, i když mohou nastat recidivy, akutní fulminantní hepatitida a další komplikace.² Protilátky IgM proti HAV jsou detekovatelné na začátku nebo před nástupem klinického onemocnění a opět klesají přibližně za 3 až 6 měsíců. Protilátky IgG proti HAV se objevují krátce po IgM, přetrvávají několik let po infekci a propůjčují celoživotní imunitu.³ Přítomnost protilátek IgG proti HAV a absence protilátek IgM proti HAV lze využít k rozlišení mezi minulými a současnými infekcemi. Testy IgM mohou detekovat protilátky u jedinců, kteří nedávno krátkodobě dostali vakcínu proti hepatitidě A. Nižší koncentrace zjištěné 4 až 6 měsíců po nástupu infekce však obvykle nevykazují pozitivní výsledek testu.^{4,5}

3. Princip testu

Test NADAL® HAV IgG/IgM je imunochromatografický test s laterálním tokem pro kvalitativní detekci a diferenciaci protilátek IgG a IgM proti HAV ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy.

Myši proti-lidské IgG a myši proti-lidské IgM jsou imobilizovány v daném pořadí v oblasti testovacích linií na membráně označených „IgG“ a „IgM“.

Během testu se protilátky IgG proti HAV a/nebo protilátky IgM proti HAV, pokud jsou ve vzorku přítomny, vážou na antigeny HAV konjugované s barevnými částicemi a předem nanesené na konjuganční podložku testovací kazety. Směs poté dále putuje membránou působením kapilárních sil a reaguje s činidly na membráně. Tyto komplexy jsou pak zachyceny myšími proti-lidskými IgG a myšími proti-lidskými IgM v daném pořadí v oblasti testovacích linií „IgG“ a „IgM“. Přítomnost barevné linie v oblasti testovací linie „IgG“ a/nebo „IgM“

poukazuje na pozitivní výsledek na protilátky IgG proti HAV a/nebo IgM proti HAV. Absence barevné linie v oblasti testovací linie „IgG“ a/nebo „IgM“ poukazuje na negativní výsledek na protilátky IgG proti HAV a/nebo IgM proti HAV.

Zobrazení barevné linie v oblasti kontrolní linie „C“ slouží jako procedurální kontrola a znamená, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku a že došlo k promočení membrány.

4. Činidla a dodávané materiály

- 30 NADAL® HAV IgG/IgM testovacích kazet
- 30 kapilárních trubiček (5 µL)
- 1 pufr „Buffer“ (6 mL)*
- 1 návod k použití

*obsahuje následující konzervanty: ProClin™ 300: 0,05 %.

V souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008 CLP není pro ProClin™ 300 povinné označování nebezpečnosti.

5. Další potřebné materiály

- Nádoby pro odběr vzorku (vhodné pro testování vzorek)
- Centrifuga (pouze pro vzorky séra nebo plazmy)
- Alkoholové tampóny
- Lancety (pouze pro vzorky plné krve z prstu)
- Stopky

6. Skladování a trvanlivost

Testovací sady by měly být skladovány při 2-30°C do data expirace. Testovací kazety jsou trvanlivé až do data expirace vytištěného na ochranné fólii. Testovací kazety by do doby použití měly zůstat v zapečetěné ochranné fólii. Testovací sady nezmrazujte. Testy nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na obalu. Dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci komponentů sady. Komponenty testovací sady nepoužívejte, pokud existuje podezření, že došlo k mikrobiální kontaminaci nebo sražení. Biologická kontaminace pipet, nádob nebo činidel může vést k nesprávným výsledkům.

7. Varování a bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte celý návod k použití.
- Test nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na obalu.
- Nepoužívejte komponenty testovací sady, je-li primární obal poškozen.
- Test nepoužívejte, pokud fóliový obal neobsahuje vysoušecí sáček nebo pokud je vysoušecí sáček uvnitř fóliového obalu poškozen.
- Testy jsou určeny pouze k jednorázovému použití.
- Nenanašejte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční oblasti (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Pro každý vzorek používejte novou nádobu, aby se zabránilo křížové kontaminaci vzorků.
- Nezaměňujte a nemíchejte komponenty z různých testovacích sad.
- Nepoužívejte pufr, pokud je zbarvený nebo zakalený. Zbarvení nebo zakalení může být známkou mikrobiální kontaminace.
- Nejezte, nepijte ani nekuřte v místě, kde se zachází se vzorky a testovacími sadami.

- Během testování vzorků používejte ochranný oděv jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle.
- Se všemi vzorky zacházejte jako s potencionálně infekčními. V průběhu všech testovacích kroků dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik a řiďte se standardními předpisy pro správnou likvidaci vzorků.
- Testovací sada obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je tudíž doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potencionálně infekčními a dle běžných bezpečnostních opatření (např. nepolykejte nebo nevdechujte).
- Teplota může nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Použité testovací materiály by měly být zlikvidovány v souladu s místními předpisy.

8. Odběr a příprava vzorku

Test NADAL® HAV IgG/IgM může být proveden se vzorky plné krve (venózní nebo z prstu), séra nebo plazmy.

Odběr vzorku plné krve z prstu:

- Umyjte pacientovu ruku pomocí mýdla a teplé vody nebo ji očistěte alkoholovým tampónem. Nechte oschnout.
- Masírujte ruku a třete ji směrem k bříšku prostředníčku nebo prsteníčku, aniž byste se dotkli místa vpichu.
- Propíchněte pokožku pomocí sterilní lancety. První kapku krve setřete.
- Opatrně třete ruku od zápěstí k dlaní a poté k prstu a vytvořte kulatou kapku krve na místě vpichu.

Plná krev z prstu by měla být testována okamžitě.

Vzorky plné krve odebrané venepunkcí

Pro přípravu vzorků venózní plné krve nebo plazmy by měly být použity nádoby obsahující antikoagulanty jako jsou EDTA, citronan sodný nebo heparin sodný.

Testování by mělo proběhnout ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky po delší dobu při pokojové teplotě.

Pokud bude test proveden do 24 hodin od odběru vzorku, měla by být plná krev odebraná venepunkcí skladována při teplotě 2-8°C.

Vzorky plné krve nezmrazujte.

Vzorky séra a plazmy

Oddělte sérum nebo plazmu od krve co nejdříve, aby se předešlo hemolýze. Používejte pouze čisté, nehemolyzované vzorky.

Testování by mělo proběhnout ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky po delší dobu při pokojové teplotě. Vzorky séra a plazmy mohou být skladovány při teplotě 2-8°C po dobu nejdéle 5 dnů. V případě dlouhodobého skladování udržujte vzorky při teplotě -20°C.

Před testováním nechte vzorky dosáhnout pokojové teploty. Zmrazené vzorky by měly být před testováním řádně rozmrazeny a dobře a pečlivě promíchány. Vzorky opakovaně nezmrazujte a nerozmrazujte.

Pokud jsou vzorky přepravovány, měly by být zabalené v souladu s místními předpisy pro přepravu etiologických agens.

Ikterické, lipemické, hemolyzované, tepelně ošetřené a kontaminované vzorky mohou způsobit chybné výsledky.

9. Provedení testu

Testy, vzorky, pufr a/nebo kontroly nechte před testováním dosáhnout pokojové teploty (15-30°C).

1. Testovací kazetu vyjměte z fóliového sáčku a použijte ji co nejdříve. Nejlepších výsledků dosáhnete, pokud test provedete okamžitě po otevření fóliového sáčku. Vyznačte na testovací kazetu identifikaci pacienta nebo kontroly.
2. Položte testovací kazetu na čistou a rovnou plochu.
3. Držte kapilární trubičku svisle, nasajte vzorek (plná krev/sérum/plazma) až po značku naplnění (cca 5 µL) a přidejte ho do otvoru pro vzorek (S) na testovací kazetě.

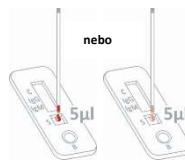
Alternativně může být použita mikropipeta (5 µL).

Zamezte utváření bublin v otvoru pro vzorek (S) a nepřidávejte žádný roztok do výsledkové oblasti.

4. Držte lahvičku s pufrém svisle, přidejte 2 kapky (cca 60-80 µL) pufru do otvoru pro pufr (B).

Zamezte utváření bublin v otvoru pro pufr (B) a nepřidávejte žádný roztok do výsledkové oblasti.

5. Spusťte stopky.
6. Vyčkejte, dokud se nezobrazí barevná/barevné linie. Výsledek odečtěte po 15 minutách. Po více než 20 minutách již výsledek neodečítejte.



10. Vyhodnocení výsledků

Pozitivní pro IgM:

Barevná linie se objeví v oblasti kontrolní linie „C“. Další barevná linie se objeví v oblasti testovací linie „IgM“. Výsledek testu indikuje přítomnost protilátek IgM proti HAV.



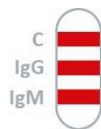
Pozitivní pro IgG:

Barevná linie se objeví v oblasti kontrolní linie „C“. Další barevná linie se objeví v oblasti testovací linie „IgG“. Výsledek testu indikuje přítomnost protilátek IgG proti HAV.



Pozitivní na IgM a IgG:

Barevná linie se objeví v oblasti kontrolní linie „C“. Barevná linie se objeví v oblasti testovací linie „IgM“ a další barevná linie se objeví v oblasti testovací linie „IgG“. Výsledek testu indikuje přítomnost protilátek IgM a IgG proti HAV.



Poznámka: Intenzita barvy v oblasti testovacích linií „IgG“ nebo „IgM“ se může lišit v závislosti na koncentraci protilátek proti HAV ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti testovací

linie „IgG“ nebo „IgM“ by proto měl být vyhodnocen jako pozitivní. Mějte na vědomí, že se jedná pouze o kvalitativní test, který neurčuje koncentraci analytu ve vzorku.

Negativní:

Barevná linie se objeví v oblasti kontrolní linie „C“. Neobjeví se žádné barevné linie v oblasti testovacích linií „IgM“ a „IgG“.

Neplatný:

Nezobrazí se kontrolní linie „C“. Výsledky jakéhokoliv testu, na kterém se ve stanoveném čase pro odečítání výsledků nezobrazila kontrolní linie, musí být znehodnoceny.

Revidujte prosím postup a zopakujte test s novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvává, přestaňte ihned používat testovací sadu a kontaktujte Vašeho distributora.

Nedostatečné množství vzorku, nesprávné provedení testu nebo prošlý test jsou nejpravděpodobnější důvody k nezobrazení kontrolní linie.

11. Kontrola kvality

V testovací kazetě je obsažena interní procedurální kontrola:

Barevná linie, která se zobrazí v oblasti kontrolní linie „C“, je považována za interní procedurální kontrolu. Potvrzuje použití dostatečného množství vzorku, dodržení správného postupu a dostatečné promočení membrány.

Správná laboratorní praxe (SLP) doporučuje používání externích kontrol k ověření správné výkonnosti testovací sady.

12. Omezení

- Test NADAL® HAV IgG/IgM je určen pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku. Tento test by měl být používán pouze ke kvalitativní detekci a diferenciaci protilátek IgG a IgM proti HAV ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy.
- Tímto kvalitativním testem nemohou být zjištěny ani kvantitativní hodnota ani míra zvýšení/snížení koncentrace protilátek proti HAV.
- Přesnost testu závisí na kvalitě vzorku. Nepřesné výsledky testu se mohou objevit z důvodu nesprávného odebrání nebo skladování vzorku (viz kapitola 8 „Odběr a příprava vzorku“).
- Některé vzorky, které obsahují nezvykle vysoké titry heterofilních protilátek nebo revmatoidní faktory (≥ 1000 IU/mL), mohou ovlivnit výsledek testu.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by měly být veškeré výsledky vyhodnoceny lékařem v souvislosti s dalšími dostupnými klinickými informacemi.
- Test NADAL® HAV IgG/IgM detekuje pouze přítomnost protilátek proti HAV ve vzorcích a neměl by být používán jako jediné kritérium pro stanovení diagnózy infekce HAV.
- Infekce HAV může postupovat rychle. Je-li výsledek testu negativní, avšak klinické symptomy přetrvávají, je doporučeno provést další testy za použití jiných klinických metod, například PCR nebo ELISA.
- Negativní výsledek za žádných okolností nevylučuje možnost nákazy nebo akutní infekce HAV. Vzorky odebrané

příliš brzy v průběhu infekce mohou obsahovat hladiny IgM, které jsou pod mezí detekce tohoto testu.

- Negativní výsledek testu se může objevit v případě, pokud je titer protilátek proti HAV přítomných ve vzorku pod mezí detekce testu nebo pokud zjištěné protilátky proti HAV nebyly přítomny v té fázi nemoci, ve které byl vzorek odebrán.
- Přítomnost detekovatelných protilátek IgG proti HAV může být způsobena prodělanými infekcemi a/nebo očkováním.

13. Výkonnostní charakteristiky

Klinické funkce

Diagnostická citlivost a specifita

Test NADAL® HAV IgG/IgM byl vyhodnocen na základě klinických vzorků plazmy, jejichž stav byl potvrzen za použití metody ELISA.

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgG)	ELISA protilátky IgG proti HAV		
	Pozitivní	Negativní	Celke
	125	4	129
	0	71	71
Celkem		75	200

Diagnostická citlivost: $> 99,9\%$ ($97,1\% - 100,0\%$)*

Diagnostická specifita: $94,7\%$ ($86,9\% - 98,5\%$)*

Celková shoda: $98,0\%$ ($95,0\% - 99,5\%$)*

*95% interval spolehlivosti

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

Test NADAL® HAV IgG/IgM (IgM)	ELISA protilátky IgM proti HAV		
	Pozitivní	Negativní	Celke
	91	7	98
	5	203	208
Celkem		210	306

Diagnostická citlivost: $94,8\%$ ($88,3\% - 98,3\%$)*

Diagnostická specifita: $96,7\%$ ($93,3\% - 98,7\%$)*

Celková shoda: $96,1\%$ ($93,3\% - 98,0\%$)*

*95% interval spolehlivosti

Výkonnost s Boston Biomedica Inc (BBI) Anti-HAV sérokonverzním panelem

Výkonnost testu NADAL® HAV IgG/IgM byla vyhodnocena pomocí BBI Anti-HAV sérokonverzního panelu (PHT903). Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

BBI referenční panel: ELISA HAV		Test NADAL® HAV IgG/IgM
Typ	Počet	Shoda
HAV IgG pozitivní	8	8 (100 %)
HAV IgG negativní	2	2 (100 %)
HAV IgM pozitivní	8	8 (100 %)
HAV IgM negativní	2	2 (100 %)

Analytická funkce

Mez detekce

Mez detekce testu NADAL® HAV IgG/IgM je 70 mIU/mL pro IgG (NIBSC 97/646).

Analytická specifika**Křížová reaktivita**

Vzorky séra s následujícími infekčními nemocemi a imunomarkery (negativní protilátky IgG a IgM proti HAV) byly testovány pomocí testu NADAL® HAV IgG/IgM.

HBV	Malárie
HCV	Tuberkulóza
HEV	<i>T. pallidum</i>
HIV	Břišní tyfus
hCG	ANA
Dengue	HAMA
<i>H. pylori</i>	Rheumatoidní faktory (až 1000 IU/ml)

Při testování pomocí testu NADAL® HAV IgG/IgM nebyla zjištěna žádná křížová reaktivita se vzorky.

Interferující látky

Negativní a slabě pozitivní vzorky protilátek IgM a IgG proti HAV byly obohaceny o následující potencionálně interferující látky a nevykázaly žádnou interferenci s testem NADAL® HAV IgG/IgM.

Látka	Koncentrace
Albumin	60 g/L
Bilirubin	0,2 mg/mL
Kreatinin	442 µmol/L
EDTA	3,4 µmol/L
Glukóza	55 mmol/L
Hemoglobin	2 g/L
Heparin sodný	3000 IU/mL
Kyselina salicylová	4,24 mmol/L
Citronan sodný	3,4 %

Přesnost**Opakovatelnost**

Opakovatelnost byla stanovena testováním 20 replikátů negativních, slabě, středně a silně pozitivních vzorků séra s protilátkami IgG proti HAV a slabě pozitivních vzorků séra s protilátkami IgM proti HAV. Testování bylo provedeno jedním uživatelem za použití 3 šarží testu NADAL® HAV IgG/IgM na jednom místě v jeden den. > 99 % vzorků bylo identifikováno správně (20/20 správných testů na koncentraci, 95% interval spolehlivosti: 96,4 %-100 % pro každou šarží). Test NADAL® HAV IgG/IgM prokázal přijatelnou opakovatelnost.

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost byla stanovena testováním 2 replikátů negativních, slabě, středně a silně pozitivních vzorků séra s protilátkami IgG proti HAV a slabě pozitivních vzorků séra s protilátkami IgM proti HAV. Testování bylo provedeno 2 uživateli za použití 3 nezávislých šarží testu NADAL® HAV IgG/IgM na 3 různých místech po dobu 5 samostatných dnů. > 99 % vzorků bylo identifikováno správně (180/180 správných testů na koncentraci, 95% interval spolehlivosti: 99,6 %-100 %). Test NADAL® HAV IgG/IgM prokázal přijatelnou reprodukovatelnost.

14. Hlášení závažných incidentů

V případě jakýchkoliv závažných incidentů souvisejících s prováděním testu NADAL® HAV IgG/IgM neprodleně informujte společnost nal von minden GmbH a příslušný úřad.

Pokud je to možné, **nelikvidujte** použitý test a příslušné komponenty testovací sady.

15. Reference

1. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. Science. 1973;182:1026-1028.
2. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. Am Fam Physician. 2012 Dec 1;86(11):1027-34.
3. Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, Washington DC, 2002
4. Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach. Clin Microbiol Rev. 2006 Jan;19(1):63-79.
5. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. J Infect Dis, 1995, 171(Suppl 1):S9-S14.

Rev. 0, 2022-05-23 JV

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	<i>in-vitro</i> -Diagnostika	<i>in-vitro</i> diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Dispositivo medico- diagnostico <i>in-vitro</i>	Tylko do diagnostyki <i>in-vitro</i>
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Numéro de lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbicante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning nøye
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in-vitro</i>	<i>in-vitro</i> - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in-vitro</i> -diagnostik	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	Medicinsk udstyr til <i>in-vitro</i> -diagnostik	<i>in-vitro</i> diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperatur- begränsning	Temperatuurlimiet	Temperatur- begrænsning	Temperatur begrænsning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchcode	Merkning
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebuje do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il lingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrækkelig for<n> tester

Our Teams

Germany:**Regensburg**

Tel: +49 941 290 10-0
Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0
Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29
Free Tel: 0800 291 565
Fax: +49 290 10-50
Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18
Free Tel – UK: 0808 234 1237
Free Tel – IRE: 1800 555 080
Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240
France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720
Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82
Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux, Tel: 800 211 16
Lux, Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759
Free Tel: 900 938 315
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34
Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44
Free Tel: 00 800 491 15 95
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735
Tel, Verde: 800 849 230
Fax: +49 941 290 10-50
Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600
Free Tel: 0800 0222 890
Fax: +31 70 30 30 775
Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries:**Denmark**

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 808 887 53

Finland

Tel: +31 703075 606
Free Tel: 0800 918 263
Free Fax: 0800 918 262

Norway

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 800 16 731

Sweden

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 020 79 09 06



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Tel: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1