MANUAL DE INMUNOSEROLOGIA

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
Yesid Poveda Rivera Coordinación Laboratorio Clínico Octubre 2017	Yolima Gómez Parada Dirección de Calidad y planeación estratégica Octubre 2017	Juan Carlos Meléndez Gerente Octubre 2017
ACTUALIZADO POR:	**REVISADO POR:**	**APROBADO POR:**
Yesid Poveda Rivera Coordinación de Laboratorio Clínico Enero 2020	Yolima Gómez Parada Dirección de Calidad y planeación estratégica Enero 2020	Juan Carlos Meléndez Gerencia Enero 2020
ACTUALIZADO POR:	**REVISADO POR:**	**APROBADO POR:**
Nelly Esperanza Prato Coordinación Laboratorio Clinico Mayo 2023	Catherine Torrado Acevedo Profesional de Calidad y Habilitación Mayo 2023	Nohora Ramos Marquez Gerente General 18 Mayo 2023

CONTROL DE CAMBIOS		
Versión	Fecha de Aprobación	Descripción de Cambios Realizados
001	Octubre 2017	Creación
002	27 enero 2020	Actualización según proceso actual y sistema de gestión documental
003	18 mayo 2023	Actualización según proceso actual

ELABORADO POR:	**REVISADO POR:**	**APROBADO POR:**
Coordinación de Laboratorio Clínico	Profesional de Calidad y Habilitación	Gerencia General

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

1. OBJETIVOS

Estandarizar los procedimientos del área de inmunoserología en el IPS NORDVITAL; para la obtención de resultados que garanticen calidad y confiabilidad.

2. ALCANCE

Aplica al laboratorio clínico de NORDVITAL IPS.

3. RESPONSABLES CAPACITACIÓN

- Coordinador laboratorio clínico

4. RESPONSABLE EJECUCIÓN

- Bacteriólogos

5. MÉTODOS DE CAPACITACIÓN PARA LAS PERSONAS QUE EJECUTAN EL PROCESO

- Publicación de documento en INTRANET
- Lectura individual
- Socialización individual
- Socialización grupal, se incluye el documento en el cronograma de procesos prioritarios del servicio.

6. MÉTODO PARA EVALUAR ADHERENCIA

- Eventos adversos y/o incidentes reportados
- Resultado de postest realizado seguido de la capacitación programada en cronograma de procesos prioritarios.

7. MÉTODO DE RETROALIMENTACIÓN

- Resocialización del documento
- Evaluación posterior a retroalimentación
- Actualización del documento según necesidad

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

8. FRECUENCIA DE ACTUALIZACIÓN

El presente manual será actualizado cada dos años y/o antes según necesidad.

9. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

- **Anticuerpos:** Son glicoproteínas del tipo gamma globulina. Pueden encontrarse de forma soluble en la sangre u otros fluidos corporales de los vertebrados, disponiendo de una forma idéntica que actúa como receptor de los linfocitos B y son empleados por el sistema inmunitario para identificar y neutralizar elementos extraños tales como bacterias, virus o parásitos.
- **Antígeno:** Es una sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria.[] La definición moderna abarca todas las sustancias que pueden ser reconocidas por el sistema inmune adaptativo, bien sean propias o ajenas.
- **Prueba rápida:** Las pruebas rápidas, también conocidas como pruebas de diagnóstico rápido o RDT (por sus siglas en inglés), son pruebas fáciles de usar que suelen dar resultados en 20 minutos o menos.

10. CONTENIDO

10.1 Proteina c reactiva (PCR) Latex

- **FUNDAMENTO DEL MÉTODO:** La proteína C-reactiva (PCR) sérica provoca una aglutinación de las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-proteína C-reactiva humana. La aglutinación de las partículas de látex es proporcional a la concentración de PCR y puede ser cuantificada por turbidimetría1

- **REACTIVOS**

CONTENIDO

	COD 31011	COD 31012	COD 31107
A. Reactivo	1 x 3 mL	1 x 6 mL	1 x 3 mL
C -. Control Negativo	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-
C +. Control Positivo	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-
Tarjetas visualizadoras	3	6	-
Palillos desechables	1 x 50	1 x 150	-

Imagen 1. Reactivos

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **COMPOSICIÓN:** Reactivo: Suspensión de partículas de látex sensibilizadas con anti-proteína C-reactiva, azida sódica 0,95 g/L. C -. Control Negativo: Suero conteniendo menos de 6 mg/L. C +. Control Positivo: Suero humano conteniendo más de 6 mg/L. Todos los componentes de origen humano utilizados en la preparación de los controles positivo y negativo eran negativos para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, los controles deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos. Tarjetas Visualizadoras. (Nota 1). Palillos Desechables.

- **CONSERVACIÓN:** Conservar a 2-8ºC, excepto las Tarjetas Visualizadoras y los Palillos Desechables que pueden mantenerse a temperatura ambiente. El Reactivo y Controles son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso. Indicaciones de deterioro:

Reactivo: presencia de aglutinación en el frasco.

Controles: presencia de material particulado.

- **PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**: El reactivo y los controles están listos para su uso.

- **EQUIPO ADICIONAL**

✓ Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 100 r.p.m.
✓ Tarjetas visualizadores y palillos desechables.

- **MUESTRAS** Suero recogido mediante procedimientos estándar. La PCR en suero es estable 7 días a 2-8°C.

- **PROCEDIMIENTO**

1. Dejar atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. (Nota 2)

2. Depositar 50 µL de la muestra a ensayar y una gota de cada Control en círculos separados de la tarjeta visualizadora.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

3. Homogeneizar el Reactivo (A) con suavidad antes del ensayo. Mantener el vial del Reactivo (A) en posición vertical y añadir a cada círculo una gota del Reactivo (A) próxima a la muestra a analizar.

4. Mezclar con ayuda de un palillo desechable, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.

5. Agitar la tarjeta a 100 r.p.m. durante 2 minutos. LECTURA Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación dentro del minuto siguiente a la parada del agitador (Nota 3).

Resultados positivos: La presencia de aglutinación indica una concentración de PCR en el suero igual o superior a 6 mg/L. Los sueros positivos pueden titularse. Para la titulación, realizar diluciones dobles en NaCl 9 g/L.

Se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo. La concentración aproximada de PCR en la muestra puede obtenerse multiplicando el título obtenido por 6 mg/L. Resultados negativos: La ausencia de aglutinación indica un contenido de PCR en el suero inferior a 6 mg/L

- **CONTROL DE CALIDAD**: Los Controles Positivo (C +) y Negativo (C -) suministrados con el kit se han de ensayar conjuntamente con las muestras de los pacientes, con el fin de verificar el correcto funcionamiento del kit. El Control Positivo (C +) provoca la aparición de una aglutinación visible de las partículas de látex. El Control Negativo (C -) no provoca la aparición de una aglutinación visible de las partículas de látex. Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables. Se registran

- **CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS**

✓ Detectabilidad: 6 mg/L de PCR, utilizando un patrón interno trazable al Material de Referencia Certificado BCR 470 (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Este valor puede variar hasta un 25% dependiendo de variaciones no controladas del procedimiento y de la experiencia del operario en la lectura.
✓ Efecto de alta concentración (zona): Ausente por lo menos hasta concentraciones de 250 mg/L.
✓ Resultados falsos: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud. –Interferencias: la lipemia (5 g/L), la hemoglobina (5 g/L) y la bilirrubina (15 mg/dL) no interfieren. Los factores reumatoideos pueden interferir (25 UI/mL). Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.

- **CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS:** La Proteína C-Reactiva (PCR), sintetizada en el hígado, es uno de los reactantes de fase aguda más sensibles. La PCR activa la vía clásica del complemento en respuesta a la reacción inflamatoria. Los niveles en plasma aumentan enormemente en infarto de miocardio, estrés, traumatismos, infecciones, inflamaciones, intervenciones quirúrgicas y en procesos neoplásicos. El aumento de la PCR de hasta 2000 veces superior al normal se produce en las primeras 24-48 horas, aunque dicho aumento no es específico4-5. El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

1. Las tarjetas visualizadoras son reutilizables, y deben lavarse y aclararse a fondo con agua destilada libre de detergentes.

2. La sensibilidad del ensayo puede reducirse si se efectúa a bajas temperaturas.

3. Retrasos en las lecturas pueden ocasionar una sobrevaloración de los resultados.

10.2 Factor reumatoideo (RA TEST)

- **MUESTRA:** Suero fresco libre de hemólisis, lipemia y contaminación bacteriana.

- **FUNDAMENTO:** El FR-Latex Test es una prueba rápida de aglutinación basada en una modificación de la técnica de Singer1, para la detección directa y la semi-cuantificación en porta de los factores reumatoideos (FR) presentes en el suero. La determinación se efectúa ensayando una suspensión de partículas de látex recubiertos con gamma globulina humana frente a los sueros problema. La presencia o ausencia de aglutinación visible es indicativa de la presencia o ausencia de FR en las muestras ensayadas.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **REACTIVOS:**

Precauciones: En la preparación de reactivos de origen humano, intervienen solamente materiales que, frente a técnicas probadas, han mostrado su negatividad frente a anticuerpos anti-HIV 1+2, anticuerpos antiHCV y HBsAg. Tratarlos, no obstante, como si fueran potencialmente infecciosos.
Aviso: Los reactivos de este kit contienen azida sódica. Evitar el contacto con la piel y mucosas.

- **PROCEDIMIENTO**

Lectura Reacción negativa: Suspensión uniforme sin cambio visible alguno, tal como se presenta en el control negativo.

Reacción positiva: Aglutinación débil o intensa, fácilmente visible macroscópicamente.

Prueba semi-cuantitativa Para cada muestra a analizar se utilizan 6 círculos de una tarjeta pipeteando 50 µL de solución salina (0,9%) en cada uno de ellos. Pipetear sobre el diluyente del primer círculo 50 µL de muestra, y empleando la misma punta, mezclar mediante aspiraciones y expulsiones repetidas, transfiriendo 50 µL de la mezcla resultante sobre el diluyente del segundo círculo. Continuar con la serie de dobles diluciones hasta el sexto círculo, desechando los 50 µL provenientes del mismo. Las diluciones finales obtenidas serán: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. Ensayar cada una de las diluciones tal como se describe en los pasos 4-7 de la Prueba cualitativa.

Lectura Como en la Prueba cualitativa. El título de la muestra corresponde a la máxima dilución que presenta reactividad. La dilución siguiente debe ser negativa. En el caso de resultar positiva la dilución más alta ensayada, repetir el ensayo comenzando con una dilución inicial al 1:16. Como diluyente de esta nueva serie de dobles diluciones se empleará control negativo diluido al 1:50 con solución salina, en vez de la solución salina empleada anteriormente. La tasa aproximada (UI/mL) de FR presentes en la muestra puede obtenerse multiplicando la unidad mínima detectable (sensibilidad analítica) por el título de la última dilución positiva.

- **CONTROL DE CALIDAD:** Incluir diariamente controles positivo y negativo para confirmar el correcto funcionamiento del reactivo, siguiendo los pasos descritos para la Prueba cualitativa. El control positivo debe producir una clara aglutinación. Si no se obtiene el resultado esperado, no utilice el kit.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **VALORES ESPERADOS:** De aquellos pacientes con diagnóstico clínico de artritis reumatoidea, aproximadamente el 70-80% son seropositivos para el factor reumatoide. Se demostró un resultado positivo para casi todos los pacientes con variantes de artritis reumatoidea, tales como los síndromes de Felty ó Sjögren. Puede esperarse un resultado positivo en menos del 5% de individuos sanos, mientras que en población adulta de 60 años y mayores pueden ser seropositivos un 30%, utilizando pruebas de látex para la detección del factor reumatoideo.

- **CARACTERISTICAS FUNCIONALES:** La unidad mínima detectable (sensibilidad analítica) es de aproximadamente 8 UI/mL (6-16 UI/mL), frente a un Patrón de FR trazable al Material de Referencia de la OMS 64/1. La especificidad diagnóstica es del 98,8% Efecto prozona: No se observa hasta concentraciones de 800 UI/mL. Los resultados obtenidos con este reactivo no muestran diferencias significativas al ser comparados con un reactivo de referencia. Los datos analíticos del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud. Hemoglobina (<10 g/L), bilirrubina (<20 mg/dL) y lipemia (<10 g/L) no interfieren con el ensayo. Otras sustancias pueden interferir8.

- **LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO:** Se han descrito reacciones positivas en condiciones clínicas distintas a la artritis reumatoidea como la mononucleosis, hepatitis, sífilis, infecciones diversas y en personas de edad avanzada. La mayoría de estos casos, cuando se ensayan cuantitativamente, presentan títulos de FR muy bajos.

  Pueden darse reacciones negativas falsas tanto en la fase temprana como en la fase crónica sub-clínica de la enfermedad.

- **NOTAS: l**a sensibilidad del ensayo puede reducirse a temperaturas bajas. Los mejores resultados se obtienen trabajando entre 15 y 25ºC. Retrasos en las lecturas pueden ocasionar una sobrevaloración de la tasa de anticuerpos presentes. Los títulos obtenidos con la prueba de látex no son comparables con los títulos obtenidos mediante la prueba de Waaler-Rose. Las diferencias de títulos entre técnicas no reflejan diferencias en cuanto a la capacidad de ambas para detectar factores reumatoideos.

- **CAUSAS DE ERROR:** La contaminación bacteriana de controles y muestras, así como la congelación y descongelación del Reactivo FR-Látex, son causas generales de resultados positivos falsos. Trazas residuales de detergentes en las tarjetas visualizadoras pueden ocasionar asimismo falsas positividades. Lavar las tarjetas bajo el grifo hasta que se hayan

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

eliminado todos los residuos y enjuagarlas con agua destilada. Secar al aire, evitando el empleo de solventes orgánicos puesto que modifican el acabado especial de las placas. La suspensión de Látex no debe utilizarse con posterioridad a su fecha de caducidad, puesto que un almacenamiento más prolongado puede afectar su sensibilidad.

10.3 Anti-estreptolisina O

- **MUESTRA:** Suero fresco libre de hemólisis, lipemia y contaminación bacteriana.

- **FUNDAMENTO:** La anti-estreptolisina O (ASO) sérica con 200 UI/mL o valores mayores, provoca una aglutinación de las partículas de látex recubiertas con estreptolisina O1.

- **COMPOSICIÓN:** Reactivo: Suspensión de partículas de látex blanco sensibilizadas con anti-estreptolisina O, azida sódica 0,95 g/L. C -. Control Negativo: Suero conteniendo menos de 200 IU/mL. C +. Control Positivo: Suero humano conteniendo más de 200 IU/mL. Todos los componentes de origen humano utilizados en la preparación de los controles positivo y negativo eran negativos para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y antiHIV. Sin embargo, los controles deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos. Tarjetas Visulizadoras. (Nota 1). Palillos Desechables.

- **CONSERVACIÓN**: Conservar a 2-8ºC, excepto las Tarjetas Visualizadoras y los Palillos Desechables que pueden mantenerse a temperatura ambiente. El Reactivo y Controles son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- ✓ Reactivo: presencia de aglutinación en el frasco.
- ✓ Controles: presencia de material particulado.

- **PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**: El reactivo y los controles están listos para su uso.

- **EQUIPO ADICIONAL**

- ✓ Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 100 r.p.m.
- ✓ Se necesitan tarjetas visualizadoras y palillos desechables.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **MUESTRAS**: Suero recogido mediante procedimientos estándar. La anti-estreptolisina O en suero es estable 7 días a 2-8°C.

- **PROCEDIMIENTO**

1. Dejar atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (Nota 2).

2. Depositar 50 µL de la muestra a ensayar y una gota de cada Control en círculos separados de la tarjeta visualizadora.

3. Homogeneizar el Reactivo (A) con suavidad antes del ensayo. Mantener el vial del Reactivo (A) en posición vertical y añadir a cada círculo una gota del Reactivo (A) próxima a la muestra a analizar.

4. Mezclar con ayuda de un palillo desechable, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.

5. Agitar la tarjeta a 100 r.p.m. durante 2 minutos. LECTURA Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación dentro del minuto siguiente a la parada del agitador (Nota 3).

Resultados positivos: La presencia de aglutinación indica una concentración de ASO en el suero igual o superior a 200 UI/mL. Los sueros positivos pueden titularse. Para la titulación, realizar diluciones dobles en NaCl 9 g/L. Se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo. La concentración aproximada de ASO en la muestra puede obtenerse multiplicando el título obtenido por 200 UI/mL.

Resultados negativos: La ausencia de aglutinación indica una concentración de ASO en el suero inferior a 200 UI/mL.

- **CONTROL DE CALIDAD**: Los Controles Positivo (C +) y Negativo (C -) suministrados con el kit se han de ensayar conjuntamente con las muestras de los pacientes, con el fin de verificar el correcto funcionamiento del kit. El Control Positivo (C +) provoca la aparición de una aglutinación visible de las partículas de látex. El Control Negativo (C -) no provoca la aparición de una aglutinación visible de las partículas de látex. Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

- **CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS**

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- ✓ Detectabilidad: 200 UI/mL de ASO, utilizando un patrón interno trazable al material de Referencia Biológico 97/662 (National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom). Este valor puede variar hasta un 20% dependiendo de variaciones no controladas del procedimiento y de la experiencia del operario en la lectura.
- ✓ Efecto de alta concentración (zona): Ausente por lo menos hasta concentraciones de 800 UI/mL.
- ✓ Resultados falsos: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- ✓ Interferencias: la lipemia (5 g/L), la hemoglobina (5 g/L), los factores reumatoideos (300 UI/mL) y la bilirrubina (15 mg/dL) no interfieren.Otros medicamentos y sustancias pueden interferir3.

- **CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS:** La anti-estreptolisina O es el conjunto de anticuerpos específicos frente a la estreptolisina O, un enzima extracelular producido por estreptococos del grupo A de Lancefield

-hemolítico (Streptococcus pyogenes). La anti-estreptolisina puede detectarse desde una semana a un mes después de la infección del estreptococo. Streptococcus pyogenes causa una amplia variedad de infecciones en las vías respiratorias altas tales como la faringitis aguda. Otras manifestaciones de infección por Streptococcus pyogenes incluyen glomerulonefritis, fiebre reumática, endocarditis bacteriana y fiebre escarlata4-6. El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

- **NOTAS**

1. Las tarjetas visualizadoras son reutilizables, y deben lavarse y aclararse a fondo con agua destilada sin detergentes.

2. La sensibilidad del ensayo puede reducirse si se efectúa a bajas temperaturas.

3. Retrasos en las lecturas pueden ocasionar una sobrevaloración de la tasa de antiestreptolisina.

10.4 V.D.R.L Test

La sífilis es una enfermedad venérea causada por el Treponema pallidum, que invade las mucosas intactas o la piel en áreas de abrasiones. El contacto sexual es la forma más común de transmisión.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

La detección y tratamiento de la enfermedad en sus estadios tempranos es fundamental a fin de evitar complicaciones graves como sífilis cardiovascular, Neuro-sífilis y sífilis congénita. El diagnóstico de esta enfermedad sufre la carencia de un método para cultivar el microorganismo en medios de laboratorio y la dificultad para detectarlo en estadios de la enfermedad en los que no se observan lesiones epidérmicas. Sin embargo, desde el comienzo de la infección aparecen en el suero del individuo infectado ciertas sustancias denominadas "reaginas", que reaccionan con antígenos de cardiolipina, lecitina y colesterol. Estas reaginas junto a los signos clínicos son por lo tanto los procedimientos más rápidos y útiles disponibles para diagnóstico de sífilis.

- **MUESTRA:** Suero, plasma, o LCR, fresco libre de hemólisis, lipemia y contaminación bacteriana.
  - Si hay fibrina presente, centrifugue y realice nuevamente la prueba
  - Las muestras deben obtenerse de pacientes en ayunas

- **FUNDAMENTO**

Las reaginas presentes en individuos infectados por T pallidum se detectan en suero por la reacción con un antígeno cardiolipínico purificado y estabilizado. Si la muestra contiene reagina, ésta se unirá al antígeno produciendo una floculación visible en microscopio.

- **PROCEDIMIENTO**

✓ Dejar que los reactivos tomen la temperatura ambiente
✓ Homogenizar el antígeno con suavidad antes del ensayo.

Tabla 2. Reactivos

REACTIVOS	**PACIENTE**	**CONTROL POSITIVO**	**CONTROL NEGATIVO**
Suero del paciente	50 ul		
Control positivo		50 ul	
Control negativo			50 ul
Antígeno	1 gota -20ul	1 gota - 20 ul	1 gota - 20 ul

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- ✓ Mezclar agitando durante 4 minutos a 180 rpm
- ✓ Observar microscópicamente en 10X – 40X.

- **LECTURA E INTERPRETACIÓN**

Ausencia de floculación: NO REACTIVO

Presencia de floculación: REACTIVO

NOTA: cuando el resultado es reactivo hay que semi-cuantificar haciendo diluciones seriadas con solución salina al 0.85% de la siguiente forma:

Tabla 3. Diluciones seriadas

1/2	**¼**	**1/8**	**1/16**	**1/32**	**1/64…**
50 ul Solución salina + 50 ul de la muestra + 50 ul del ANTIGENO	50 ul Solución salina + 50 ul de la dilución ½ + 50 ul del ANTIGENO	50 ul Solución salina + 50 ul de la dilución ¼ + 50 ul del ANTIGENO	50 ul Solución salina + 50 ul de la dilución 1/8 + 50 ul del ANTIGENO	50 ul Solución salina + 50 ul de la dilución 1/16 + 50 ul del ANTIGENO	50 ul Solución salina + 50 ul de la dilución 1/32 + 50 ul del ANTIGENO
Mezclar agitando					

- **NOTA:** en las diluciones seriadas se espera a que una de ellas muestre una aglutinación para seguirla, de lo contrario no se hace y se reporta hasta la misma.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **REPORTE DE RESULTADOS**:

NO REACTIVO cuando en la primera etapa dio NO REACTIVA.
Si da REACTIVA, se siguen las diluciones seriadas y se reporta el recíproco de la dilución donde observa reactividad, más la palabra Dils, ejemplo: Si hasta la dilución 1/8 hay reactividad, se reporta, REACTIVA 8 DILS.
Para líquido cefalorraquídeo, diluir el antígeno 1:2 con solución de cloruro de sodio 10 g/d. Emplear dentro de las 2 horas de preparación.

Se agrega 50 ul de la muestra y con la aguja calibrada agregar una gota del antígeno diluido. Mezclar bien y agitar horizontalmente la placa durante 8 minutos. Leer los resultados al microscopio.

Reactivo: presencia de floculación.

No reactivo: ausencia completa de floculación.

Prueba semicuantitativa: el título estará dada por la última dilución que se observe reactiva.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO: Se realiza semanalmente CONTROL POSITIVO pool de muestra positivas, CONTROL NEGATIVO solución salina, Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

10.5 SEROLOGIA RPR-Carbón

- **PRINCIPIO DEL MÉTODO:** RPR-carbón es una técnica no treponémica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de reaginas plasmáticas en suero humano. Las partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos son aglutinadas en presencia de reaginas presentes en la muestra del paciente afectado por sífilis.

- **SIGNIFICADO CLÍNICO:** Las reaginas son un grupo de anticuerpos dirigidos contra componentes del propio organismo, originadas en pacientes que sufren infección por Treponema pallidum, agente causal de la sífilis. Este microorganismo produce lesiones en el hígado y corazón, liberando al torrente circulatorio pequeños fragmentos de estos órganos no reconocidos por el propio individuo. El sistema inmunológico del paciente reacciona dando lugar a la formación de reaginas, anticuerpos frente a estos fragmentos. El ensayo es útil para seguir la respuesta a la terapia antibiótica

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

REACTIVOS

RPR-carbón	Partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos, cardiolipina, lecitina y colesterol, en tampón fosfato 20 mmol/L, Conservante, pH, 7,0.
Control + Tapón rojo	Suero artificial con un título de reaginas ≥ 1/4.
Control - Tapón azul	Suero animal. Conservante.

Imagen 2. Reactivos

- **CALIBRACIÓN:** La sensibilidad del reactivo es trazable al material de Referencia "Reference Human Reactive Serum" de CDC (Center of Diseases Control de Atlanta) y comparable al reactivo "RPR reagent" de BD (Becton Dickinson).

- **PREPARACIÓN:** RPR-carbón: Homogeneizar el reactivo con suavidad antes de su uso. Abrir el vial de RPR-carbón y acoplar la micropipeta al vial dispensador de plástico y aspirar por succión la cantidad de reactivo necesaria. Una vez terminado el ensayo, devolver la cantidad sobrante a su envase original y lavar la micropipeta y vial con agua destilada.

- **CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**: Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8ºC, y se evita la contaminación durante su uso. No congelar: la congelación de los reactivos altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos. Conservar los viales siempre en posición vertical. En caso de cambio de posición agitar hasta la disolución de posibles agregados. Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas y turbidez.

- **MATERIAL ADICIONAL**

✓ Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 80-100 r.p.m.
✓ Pipetas de 50 µL.

- **MUESTRAS:** Suero fresco o plasma. Estable 7 días a 2-8ºC o 3 meses a -20ºC. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **PROCEDIMIENTO**

Método cualitativo

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.

2. Depositar 50 µL de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta.

3. Mezclar el reactivo de RPR-carbón vigorosamente antes de usar. Invertir el vial dispensador y presionar ligeramente para eliminar las burbujas de aire.

4. Situar la micropipeta en posición vertical y perpendicular al porta, y dispensar una gota (20 µL) de este reactivo junto a cada una de las gotas anteriores.

5. Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.

6. Situar el porta sobre un agitador rotatorio a 80 – 100 r.p.m. durante 8 minutos (Nota 1). El exceso de tiempo puede originar la aparición de falsos positivos.

Método semicuantitativo

1. Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina 9 g/L.

2. Proceder para cada dilución, como en la prueba cualitativa.

- **LECTURA E INTERPRETACIÓN** Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador. Agitar el porta manualmente un par de veces antes de realizar la lectura.

Tabla 4. Interpretación

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Interpretación

Tipo de aglutinación	Lectura	Resultado
Agregados grandes o medianos	R	Reactivo
Agregados pequeños	W	Reactivo débil
Ningún agregado o ligera rugosidad	N	No Reactivo

En el método semicuantitativo, se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

- **CONTROL DE CALIDAD**

Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo de carbón, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados. Todo resultado distinto al resultado que da el control negativo se considerará positivo.

Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

- **CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

1. Sensibilidad analítica: determinación correcta del título del Material de Referencia en las condiciones descritas en el ensayo (ver calibración).

2. Efecto prozona: No se observa efecto prozona hasta títulos > o igual a 1/128.

3. Sensibilidad diagnóstica: 100 %

4. Especificidad diagnóstica: 100 %

- **INTERFERENCIAS**

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y lípidos (10 g/L), no interfieren. Los factores reumatoides (300 UI/mL), interfieren. Otros sustancias pueden interferir5.

NOTAS 1. Durante los 8 minutos de reacción no exponer el porta a una fuente de calor o de luz intensa para minimizar la evaporación. Dicha evaporación podría causar una falsa aglutinación y por tanto resultados falsos positivos.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **LIMITACIONES DEL MÉTODO**

- La prueba RPR-carbón no es específica para el diagnóstico de sífilis. Se recomienda el ensayo de todas las muestras Reactivas con métodos treponémicos como el TPHA y FTA-Abs para la confirmación de resultados.

- Un resultado negativo no excluye el diagnóstico de la sífilis. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

- La mononucleosis infecciosa, neumonía viral, toxoplasmosis, embarazo y enfermedades autoinmunes pueden causar falsos resultados positivos.

10.6 Hormona gonadotropina corionica (HCG) Cualitativa

La Gonadotropina Coriónica humana (hCG) es una hormona glucoproteica producida por la placenta en desarrollo poco después de la fertilización. En el embarazo humano, la hCG puede detectarse tanto en orina como en suero ya a los 7-10 días de la concepción.1,2,3,4 Los niveles de hCG continúan aumentando muy rápidamente, superando las 100 mUI/ ml tras la primera falta2,3,4 y alcanzando el máximo en torno a 100.000200.000 mUI/ml a las 10-12 semanas de embarazo. La aparición de hCG en orina y suero poco después de la concepción y su posterior aumento rápido durante el principio de la gestación convierten a esta hormona en un excelente marcador para la detección precoz del embarazo. La prueba hCG de embarazo en un solo paso en placa (Orina/Suero) es una prueba rápida que detecta cualitativamente la presencia de hCG en una muestra de orina o suero con una sensibilidad de 25 mUI/ml. La prueba utiliza una combinación de anticuerpos monoclonales y policlonales para detectar selectivamente los niveles elevados de hCG en orina o suero. Con el nivel de sensibilidad mencionado, la prueba hCG de embarazo en un solo paso en placa (Orina/Suero) no muestra interferencias cruzadas con otras hormonas glucoproteicas estructuralmente relacionadas, FSH, LH y TSH, en niveles fisiológicos altos.

- **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba hCG de embarazo en un solo paso en placa (Orina/Suero) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de la Gonadotropina Coriónica Humana en orina o suero, para el diagnóstico precoz del embarazo. La prueba utiliza dos líneas para indicar

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

el resultado. La línea de la prueba utiliza una combinación de anticuerpos que incluyen un anticuerpo monoclonal hCG para detectar selectivamente niveles elevados de hCG. La línea de control está compuesta por anticuerpos policlonales de cabra y partículas coloidales de oro.

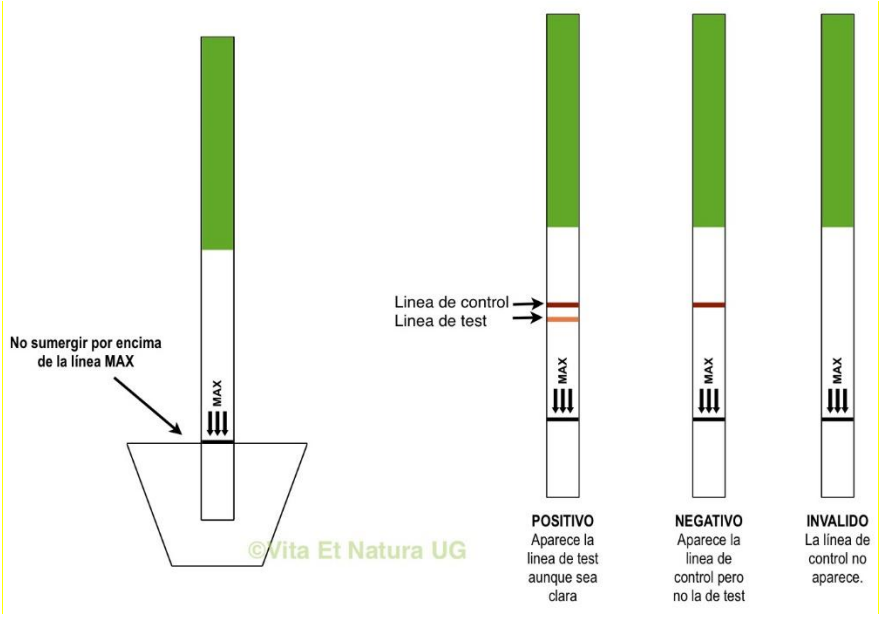


Imagen 3. Principio de la prueba

10.7 Treponema pallidum anticuerpos totales

La prueba es un ensayo inmunocromatográfico en fase sólida para la detección cualitativa de anticuerpos de todos los isotipos (IgG, IgM, IgA) contra la Treponema pallidum (TP). Esta prueba está destinada para el uso profesional como ayuda en el diagnóstico de la sífilis. Treponema pallidum (TP) es el agente causal de la enfermedad venérea sífilis. La sífilis es una enfermedad causada por la bacteria espiroqueta Treponema pallidum (TP). Los problemas de diagnóstico clínico relacionados con la sífilis son la detección de los anticuerpos de sífilis en sangre humana mediante inmunoensayo. Entre los métodos inmunológicos existentes, las pruebas treponémicas de confirmación son los formatos de aglutinación como el ensayo de hemoaglutinación del T. pallidum (TPHA) y el análisis de inmunomanchado mediante la prueba de absorción de anticuerpo treponémica fluorescente (FTA-ABS). Recientemente, se encuentran disponibles el formato ELISA y el formato de inmunocromatografía (rápido) para detectar anticuerpos de T. pallidum. Puesto

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

que incluso los antígenos altamente purificados de TP inoculado pueden contener un cierto número de materiales contaminantes como los flagelos de TP, el antígeno nativo de TP puede causar una reacción no específica en el ensayo de las muestras de suero y puede resultar en una sensibilidad más baja y en una escasa reproducibilidad. Para superar estos posibles problemas en los inmunoensayos, los investigadores han construido genes de TP para la expresión de antígenos recombinantes en sistemas bacterianos como E. coli y se han concentrado en las proteínas de las membranas TP, que son definitivamente inmunogénicas. Se ha informado que los principales antígenos inmuno-reactivos de estas proteínas de las membranas tienen un MW 47, 42, 17, y 15KDa en base al análisis western blot. contiene una tira de membrana previamente cubierta con antígenos Treponema pallidum recombinantes (17,15KDa) en la zona de la banda de prueba. El conjugado con oro coloidal de los antígenos Treponema pallidum recombinantes (17,15KDa), la muestra del paciente y el diluyente para muestra avanzan por la membrana cromatográficamente hacia la zona de prueba (T) y forman una línea visible a medida que se forma el complejo de partículas de oro antígeno-anticuerpo-antígeno. Por lo tanto, la formación de una línea visible en la zona de prueba (T) indica un resultado positivo para la detección de anticuerpos Treponema pallidum específicos (IgG, IgA, IgM). Cuando los anticuerpos Treponema pallidum específicos (IgG, IgA, IgM) están ausentes de la muestra, no aparece una banda de color visible en la zona de prueba (T).

- **MATERIALES SUMINISTRADOS / INGREDIENTES ACTIVOS DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES**

1. El equipo de la prueba contiene los siguientes elementos para realizar la prueba.

• 30 Dispositivos de prueba en bolsas individuales con un disecante

• Diluyente del ensayo (1 x 4ml/vial)

• 30 Pipeta capilar 20µl (opcional), 30 Lancetas (opcional), 30 Algodon con alcohol (opcional)

• 1 Instrucciones de uso 2. Ingredientes activos del componente principal

• 1 tira de prueba incluye: Conjugados con oro (como componente principal): Antígenos Treponema pallidum recombinantes (17,15KDa) - coloide de oro (1±0.2µg), Línea de prueba (como componente principal): Antígenos Treponema pallidum recombinantes (17, 15KDa) (0.7±0.14µg), Línea de control (como componente principal): Suero de cabra anti-Treponema pallidum (0.75±0.15µg)

• Diluyente del ensayo : Solución amortiguadora (buffer) 50mM Tris-HCL (como componente principal) (4ml), Azida de sodio (0.02w/w%)

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **PRECAUCIONES / ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL KIT**

1. Los dispositivos de prueba se deben almacenar a 2~30°C.
No congelar los componentes del kit.

2. El dispositivo de prueba es sensible a la humedad y al calor.

3. Realizar la prueba de inmediato después de retirar el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio.

4. No lo utilice después de la fecha de vencimiento.

5. La vida útil del equipo se indica en la parte exterior del paquete.

6. No utilice el equipo de prueba si el envase está dañado o el sello está roto. 7. Revisar el desecante para el cambio de color del indicador de humedad y desechar la bolsa si el color indica la saturación.

- **RECOLECCIÓN DE MUESTRAS, ALMACENAMIENTO Y PRECAUCIÓN**

1. Sangre total [Recogida de muestras mediante venopunción]

• Mediante venopunción, recoja la sangre completa en el tubo de recogida (que contiene anticoagulantes, como heparina, EDTA y citrato de sodio).

• Si la muestra de sangre no se va a analizar inmediatamente, debe refrigerarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

• Si se guarda a una temperatura de entre 2 y 8 °C, la muestra de sangre debe analizarse en un plazo de 3 días.

• No utilice una muestra de sangre que se haya conservado durante más de 3 días; podría producirse una reacción inespecífica.

• La sangre debe estar a temperatura ambiente antes de utilizarse. [Recolección con lanceta]

• Limpiar el área de punción con el algodón impregnado con alcohol.

• Presione la yema del dedo y punce la punta del dedo con una lanceta estéril.

• Con la pipeta capilar de 20µl suministrada, tome muestra hasta la línea negra.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

2. Plasma o Suero

[Plasma] Recolectar la sangre total en un tubo de recolección (utilizando el anticoagulante adecuado como heparina, EDTA o Citrato de Sodio) por punción venosa y luego centrifugue la sangre para obtener plasma.

[Suero] Recolectar la sangre total en un tubo de recolección (que NO contenga anticoagulantes como heparina, EDTA o Citrato de Sodio) por punción venosa, dejar que la sangre coagule por 30 minutos y luego centrifugue la sangre para obtener la muestra de suero sobrenadante. • Si las muestras de plasma o suero no son analizadas inmediatamente, deben ser refrigeradas de 2-8°C. Para periodos de almacenamiento mayores a 2 semanas, se recomienda congelar. Las muestras deben alcanzar temperatura ambiente antes de uso. • Las muestras de suero o plasma que contienen precipitado pueden arrojar resultados de prueba inconsistentes. Estas muestras deben ser aclaradas antes del análisis.

- **PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA (CONSULTE LA FIGURA)**

1. Retirar el dispositivo de prueba de la bolsa que contiene el papel de aluminio y colocarla sobre una superficie plana y seca.
2. En posición vertical adicionar una gota (30-45µl) de la muestra o 1 gota de sangre total de sangre (40-50µl)

Inmediatamente agregue 1 gota (35-50µl) de diluyente de muestra con la botella en posición vertical

3. En la medida en que empieza la prueba a funcionar, se observara que el color purpura se desplaza atreves de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de prueba.
4. los resultados deben ser leídos a los 15 minutos (No lea los resultados después de 20 minutos) (Consulte la figura)

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

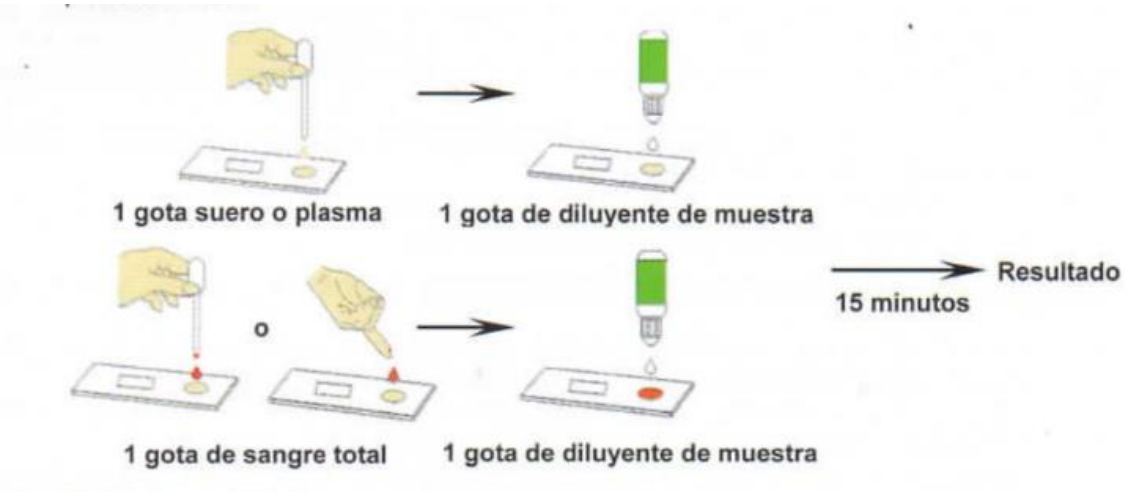


Imagen 4. Procedimiento de la prueba

5. Una banda de color aparecerá en la parte izquierda de la ventana de resultados para mostrar que la prueba está funcionando adecuadamente. Esta banda es la Banda de control.
6. La parte derecha de la ventana de resultados indica los resultados de la prueba. Si aparece otra banda de color en la parte derecha de la ventana de resultados, esta banda es la Banda de prueba.

• Resultado negativo: Si aparece solamente una línea de color morado (línea "C") en la ventana de resultados, significa que el resultado de la prueba es negativo.

• Resultado positivo: La presencia de dos bandas de color (línea "T" y línea "C") en la ventana de resultados, independientemente de qué banda aparezca primero, indica un resultado positivo para los anticuerpos TP.

• Resultado no válido: Si la banda de control púrpura (línea "C") no se visualiza en la ventana de resultados después de realizar la prueba, el resultado se considera no válido. Es posible que no se hayan seguido correctamente las indicaciones o que la prueba se haya deteriorado. Se recomienda volver a analizar la muestra.

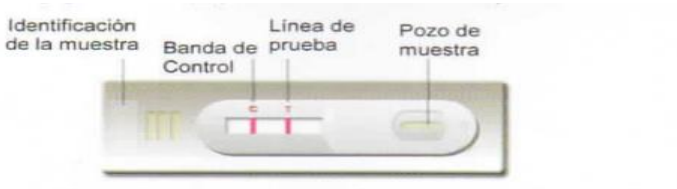


Imagen 5. Test

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
Coordinación de Laboratorio Clínico	Profesional de Calidad y Habilitación	Gerencia General

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS



Imagen 6. Interpretacion de resultados

Limitaciones de la prueba

1. El procedimiento y la interpretación de los resultados de la prueba deben seguirse cuidadosamente cuando indiquen la presencia de anticuerpos anti-Tp en el suero o plasma de los pacientes. La falla en el seguimiento puede generar resultados inexactos.

2. La prueba rápida OnSite Sífilis Ab Combo se limita a la detección cualitativa de los anticuerpos anti-Tp en suero o plasma humano. La intensidad del color de la banda no tiene relación con la cantidad de anticuerpos presentados en la muestra

3. Un resultado negativo indica la ausencia de anticuerpos detectable de anti-Tp Sin embargo este no excluye la posibilidad de la exposición o infección con Tp.

4. Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos anti-Tp presentes en la muestra es menor a los límites de detección de la prueba, o los anticuerpos que son detectados no están presentes en la etapa de la enfermedad en la que es recolectada la muestra.

5. Algunas muestras que contienen alto título inusual de anticuerpos heterófllos o de factor reumatoideo pueden afectar los resultados

6. Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados junto con otros

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

procedimientos diagnósticos y la sintomatología clínica.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO: Se realiza semanalmente CONTROL POSITIVO pool de muestra positivas, CONTROL NEGATIVO solución salina, Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

10.8 HIV 1 / 2 prueba rapida test (3ra Generación)

ad-bio HIV 1/2 Ab Plus Combo Rapid Test (3ra Generación) es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección simultánea y diferenciación de anticuerpos anti VIH-1 y anti VIH-2 (IgG, IgM, IgA) en suero, plasma o sangre total humana. Está destinada a ser usada por profesionales como una prueba de pesquizaje y provee resultados preliminares para ayudar en el diagnóstico de la infección con VIH.

Cualquier uso o interpretación de estos resultados preliminares debe tener en cuenta otras evidencias clínicas y la opinión profesional del personal de la salud. Debe considerarse el uso de métodos alternativos para confirmar los resultados obtenidos por esta prueba.

- **EXPLICACION DE LA PRUEBA**

El virus de la Inmunodeficiencia adquirida tipo I y II (VIH-1 y VIH-2) se compone de una cadena simple de ARN, La causa de la relación entre el virus VIH-1 y VIH-2 y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se ha establecido en las últimas décadas. El VIH-1 ha sido aislado de pacientes con SIDA y el complejo relacionado con el SIDA, y de pacientes sanos con alto riesgo de desarrollar SIDA, El VIH-2 se aisló de pacientes con SIDA del oeste africano y de pacientes asintomáticos seropositivos.

Los dos tipos de VIH tienen una variación significativa en las secuencias. El VIH-1 se divide en tres grupos: grupo M (mayor), que incluye por lo menos diez subtipos (A hasta la J) ; grupo O fuera del (rango), y grupo N (para el no-M, no-0). Similarmente, el VIH-2 puede ser clasificado en cinco subtipos (A hasta la E). Algunas variantes del VIH-1 comparten hasta los 50% de homología en desarrollo de sus genes con las secuencias de las cadenas prototipo más comunes.

Ambos virus VIH-1 y VIH-2 provocan una fuerte repuesta inmune induciendo la producción de anticuerpos contra el virus. La presencia de anticuerpos específicos anti VIH-1 o VIH-2 en sangre

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

y plasma, indica la exposición del individuo al virus VIH-1 y VIH-2, siendo esto de gran valor para el diagnóstico clínico''.

ad-bio HIV 1/2 Ab Plus Combo Rapid Test 3ra Generación) es desarrollada para la detección simultánea y diferenciación de anticuerpos anti VIH-1 y anti VIH-2 (IgG, IgM, IgA) en suero, plasma o sangre total humana. La prueba es fácil de usar, sin necesidad de equipo de laboratorio engorroso, requiriendo un mínimo de capacitación del personal.

- **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

ad-bioHW 1/2 Ab Plus Combo Rapid Test (3ra Generación) en un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba de cásete consiste en: 1) una almohadilla con conjugado de color borgoña que contiene antígeno VIH-1 recombinante conjugado con coloide de oro (VIH-1 conjugado), antigeno VIH-2 recombinante conjugado con coloide de oro (VIH-2 conjugado) y control de anticuerpo conjugado con oro coloidal; 2) una línea en membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de prueba (líneas 1 y 2) y la línea de control (línea C). La línea 1 es pre-recubierta con antígeno VIH-1 para la detección de anticuerpos contra el VIH-1; y la línea 2 esta pre-recubierta con antígeno VIH-2 para la detección de anticuerpos contra el VIH-2, y la línea C esta pre-recubierta esta pre-recubierta con un control de anticuerpo.

Cuando se dispensa un adecuado volumen de muestra en el pozo del casete de prueba, la muestra migra por capilaridad a lo largo del casete. Los anticuerpos VIH-1, si se encuentran en la muestra, migran a través de la almohadilla donde se unen a los conjugados de VIH-1. El inmunocomplejo es capturado por la membrana que está recubierta del antígeno VIH-1, formando una línea de color borgoña en la región 1, indicando así un resultado positivo o reactivo. La ausencia de esta línea en esa región sugiere un resultado negativo o no reactivo para anticuerpos anti VIH-1. Los anticuerpos VIH-2, si están presentes en la muestra, migran a través de la membrana hasta unirse con el conjugado VIH-2. El inmunocomplejo es entonces capturado por la membrana pre-recubierta de antígeno VIH-2, formando una línea color borgoña en la región 2, indicando un resultado positivo o reactivo. La ausencia de esta línea en esa región sugiere un resultado negativo o no reactivo para anticuerpos anti VIH-2. La ausencia de cualquiera de la línea 2 sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (línea C) que debe exhibir una línea de color borgoña por la formación del inmunocomplejo de los anticuerpos de control, independientemente de la

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

presencia de cualquier línea coloreada. De no presentarse, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

1. Bolsa de aluminio sellada que contiene:
   a. Un dispositivo de casete
   b. Un tubo capilar
   c. Un desecante
2. Diluyente de muestra (REF SB-R0011, 5 mL/botella)
3. Un inserto (instrucciones de uso).

MATERIALES QUE SON REQUERIDOS Y NO SON SUMINISTRADOS

1. Control Positivo
2. Control Negativo

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN

1. Reloj o cronómetro
2. Dispositivo de punción para la extracción de sangre total

Imagen 7. Reactivos y materiales suministrados

- **PRECAUCIONES:**

Para uso de Diagnóstico in Vitro

1. Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos.

2. No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.

3. No use los dispositivos si se encuentran vencidos

4. Atempere los reactivos de 15- 30°C antes de usarlos.

5.No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit. 6. No utilice sangre hemolizada para la prueba.

7. Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

8. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, el VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.

9. No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.

10. Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos. 11. Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma como a las muestras de los pacientes.

12. Los resultados del ensayo deben leerse a los 15-20 minutos después de adicionar la muestra o el control a la tira. Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de los 15- 20 minutos debe ser considerada no válida y la prueba debe repetirse.

13. No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

- **PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**: Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2-30°C. Si se almacena de 2-8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleva a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

- **RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y MANIPULACIÓN:** Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Plasma

1. Recolecte la muestra en un tubo tapa lila, azul o verde (que contenga EDTA, Citrato o Heparina) por venopunción.

2. Separe el plasma por centrifugación.

3. Cuidadosamente transfiera el plasma a un tubo nuevo.

Suero

1. Recolecte por venopunción la muestra en un tubo tapa roja (sin anticoagulantes)

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

2. Espere la formación del coagulo

3. Separe el suero por centrifugación

4. Cuidadosamente transfiera el suero a un tubo nuevo

Procesar las pruebas lo más pronto posible a la toma de la muestra. Almacene las muestras de 2-8°C si no se van a procesar inmediatamente. Las muestras son estables almacenadas de 2-8°C

durante 5 días. Las muestras pueden congelarse a -20°Ć para almacenamientos prolongados

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación de las muestras. Antes del ensayo, lleve las

muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle con suavidad. Las muestras que contengan partículas visibles deben ser eliminadas por centrifugación antes de la prueba.

Sangre Total

La sangre total puede obtenerse por punción digital o venopunción. Recolecte la muestra de sangre en un tubo tapa lila, azul o verde (que contenga EDTA, Citrato o Heparina, respectivamente, en Vacutainer®) No use sangre hemolizada para la prueba.

La sangre total puede almacenarse de 2-8°C si no se va a procesar inmediatamente. Las muestras deben ser procesadas antes de cumplirse 24 horas de su recolección.

- **PROCESAMIENTO**

Paso 1: Lleve las muestras y componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerada o congelada. Mezcle bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado.

Paso 2: Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.

Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.

Paso 4: Llene el tubo capilar con la muestra (20 µL) no exceda la línea de muestra como se muestra en la imagen. Para mayor precisión, transfiera la muestra con una pipeta que de exacto el volumen.

Con el tubo capilar en posición vertical, dispense la muestra en el centro del pozo de muestra asegurándose de que no haya burbujas.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Agregue 2 gotas (aprox. 60-80 µL) de diluyente de muestra inmediatamente dentro del pozo de muestra con la botella en posición vertical.

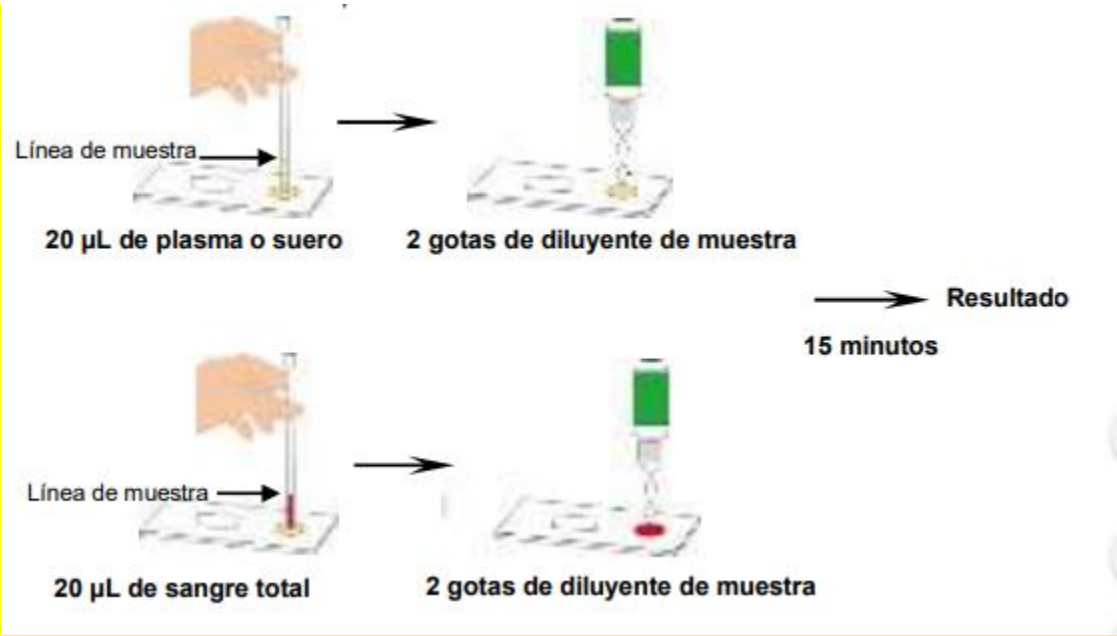


Imagen 8. Procesamiento

Paso 5: Contabilice el tiempo.

Paso 6: Los resultados pueden leerse entre 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 minuto. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 20 minutos. Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de la ventana de 15-20 minutos deben ser considerados inválidos y el ensayo debe ser repetido. Tras interpretar los resultados deseche los dispositivos usados según las regulaciones locales.

- **CONTROL CALIDAD**

1. Control Interno: Esta prueba contiene un control incluido, la línea C. Esta se desarrolla después de adicionar la muestra y el diluyente. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

2. Control Externo: Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, particularmente en las siguientes circunstancias:

a. Cuando un nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.

b. Cuando se inicia un nuevo kit.

c. Un nuevo envío de kits es utilizado.

d. Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2-30°C.

e. La temperatura del sitio de procesamiento esta por fuera de 15-30°C.

f. Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.

g. Investigar la causa de resultados in validos repetidos.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO: Se realiza semanalmente CONTROL POSITIVO pool de muestra positivas, CONTROL NEGATIVO solución salina, Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

- **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

1. RESULTADO NEGATIVO O NO REACTIVO: Solo si se colorea la línea C, la prueba indica que el nivel de anti VIH-1 y anti VIH-2 es indetectables en la muestra. El resultado es negativo o no-reactivo para VIH-1 y negativo o no reactivo para VIH-



Imagen 9. Test

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

2. RESULTADO POSITIVO O REACTIVO:

2.1 Adicionalmente a la presencia de la línea C se colorea la línea 1, la prueba indica la presencia de anticuerpos anti VIH-1 en la muestra. El resultado en VIH-1 es positivo o reactivo.



Imagen 10. Test

2.2 Adicionalmente a la presencia de la línea C se colorea la línea 2, la prueba indica la presencia de anticuerpos anti VIH-2 en la muestra. El resultado en VIH-2 es positivo o reactivo.



Imagen 11. Test

2.3 Si adicionalmente a la presencia de la línea C, se colorean las líneas 1 y 2, los resultados indican que la muestra contiene anti VIH-1 y anti VIH-2. El resultado es positivo o reactivo para VIH-1 y VIH-2. Para la diferenciación del tipo de infección por el virus VIH, vea Limitaciones de la prueba, numero 5. Las muestras con resultados reactivos deben ser confirmados con técnicas alternativas tales como ELISA o PCR y según los hallazgos clínicos antes de hacer un diagnóstico.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **RESULTADO INVALIDO**:

Si la línea C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras líneas se colorean. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete



Imagen 12. Test

Interferencia

Las sustancias comunes (tales como medicamentos para el dolor y la fiebre, componentes sanguíneos), pueden afectar al rendimiento de ad-bio HIV 1/2 Ab Plus Combo Rapid Test. Esto fue estudiado mediante el fortalecimiento de estas sustancias en los controles estándar de VIH1 Ab y VIH-2 Ab. Los resultados se presentan en la siguiente tabla y demuestran que las sustancias o enfermedades estudiadas no afectan el rendimiento de ad-bio HIV 1/2 Ab Plus Combo Rapid Test.

Lista de químicos de interferencia potencial y concentraciones analizadas:

1. Albumina	60 g/L	5. Glucosa	55 mmol/L
2. Bilirrubina	20 mg/dL	6. Heparin	3,000 U/L
3. Creatinina	442 µmol/L	7. Salicylic acid	4.34 mmol/L
4. EDTA	3.4 µmol/L		

Imagen 13. Lista de quimicos de interferencia potencial y concentraciones analizadas

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

1. El procedimiento del análisis y la interpretación Resultado de la prueba debe seguirse de cerca cuando se prueba la presencia de anticuerpos contra VIH en suero, plasma o sangre total de los pacientes. Si no sigue el procedimiento puede dar resultados inexactos.

2. ad-bio HIV 1/2 Ab Plus Combo Rapid Test se limita a la detección cualitativa de los anticuerpos para VIH-1 y VIH-2 en suero, plasma o sangre total humana. La intensidad del color de la linea no se correlaciona con la cantidad de anticuerpos en la muestra.

3. Un resultado no-reactivo de un individuo indica la ausencia de anticuerpos detectables de VIH1 y VIH-2, un resultado no-reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección por VIH1 o VIH-2.

4. Un resultado no-reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos anti VIH-1 y VIH-2 presentes en la muestra es menor a los límites de detección de la prueba, o los anticuerpos que son detectados no están presentes en la etapa de la enfermedad en la que es recolectada la muestra.

5. Como se ilustra en la INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DEL ENSAYO-2.3, las tres líneas (1,2 y C) se pueden formar en las pruebas con muestras que contienen alto título de anticuerpos contra el VIH-1. Para diferenciar la reactividad cruzada: diluir la muestra con Diluyente de Muestra 1:50 o 1:100, a continuación, vuelva a examinar la muestra diluida con un nuevo dispositivo de prueba. Sólo 1 línea y la C aparecerán si se trata de un VIH-1. Si nuevamente aparecen las líneas 1, 2 y C, la prueba indica la exposición tanto para VIH-1 como para VIH-2.

6. La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten, y los resultados de la prueba son no-reactivos, es recomendable tomar una nueva muestra días después o realizar una prueba alternativa.

7. Algunas muestras que contienen alto título inusual de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoideo pueden afectar los resultados. Positivos falsos pueden ocurrir debido a altos niveles de HAMA FR u otros factores desconocidos en las muestras. Esto puede ocurrir en menos de 0.3% de pruebas desarrolladas.

8. Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados junto con otros procedimientos diagnósticos y la sintomatología clínica.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

10.9 Hepatitis B antigen de superficie (HBsAg Combo Test – Casete)

ad-bio HBsAg Combo Rapid Test es un inmunoensayo de cromatografía lateral para la detección cualitativa del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) en plasma, suero o sangre total humana en un nivel igual o superior a 2 ng/mL. Está destinada a ser usada por profesionales como una prueba de pesquizaje y provee resultados preliminares para ayudar en el diagnóstico de la infección con HBsAg.

Cualquier uso o interpretación de estos resultados preliminares debe tener en cuenta otras evidencias clínicas y la opinión profesional del personal de la salud. Debe considerarse el uso de métodos alternativos para confirmar los resultados obtenidos por esta prueba.

- **EXPLICACION DE LA PRUEBA:** El virus de la hepatitis B (VHB) es la causa más común de viremia persistente y la causa más importante de enfermedad hepática crónica y carcinoma hepatocelular. Clínicamente las infecciones por el VHB han existido durante varios milenios. Se estima que hay cerca de 300 millones de portadores crónicos de VHB en el mundo. Los tipos de portadores varían de un 0.3% (países del occidente) al 20% (Asia, África)

El VHB es un virus ADN hepatotrópico. El core de este virus contiene ADN polimerasa2, el antígeno core (HBcAg)3 y el antígeno e (HBeAg)4. El core del VHB está encerrado en una capa que contiene lípidos, proteínas y carbohidratos que expresan un antígeno en la superficie (HBsAg)3.

El HBsAg es el primer marcador que aparece en sangre en la fase aguda de la hepatitis B, es detectado 1 semana a 2 meses después de la exposición, y de 2 semanas a 2 meses antes de la aparición de los síntomas. Tres semanas después del inicio de hepatitis aguda casi la mitad de los pacientes todavía es positivo para el HBsAg. En la fase crónica, el HBsAg persiste por un largo periodo (6-12 meses) sin seroconversión para los anticuerpos correspondientes. Por lo tanto, el tamizaje para HBsAg es altamente recomendable para todos los donantes, las mujeres embarazadas y las personas en grupos de alto riesgo.

ad-bio HBsAg Combo Rapid Test detecta el HBsAg en suero, plasma o sangre total humana en 20 minutos por personal mínimamente entrenado sin necesidad de equipo de laboratorio.

- **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

ad-bio HBsAg Combo Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba del casete consiste en: 1) una membrana con conjugado coloreado de borgoña que contiene anticuerpos anti-HBsAg conjugados con oro coloidal (conjugados HBsAg Ab) y un control

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

de anticuerpo conjugado con oro colodial, 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene la línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La línea T está recubierta con anticuerpos anti HBsAg de ratón, y la línea C está recubierta con anticuerpos de control.

Cuando es dispensado un volumen adecuado de la muestra en el pozo de muestra del casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. El HBsAg si está presente en la muestra se une con el conjugado HBsAg Ab. Este inmunocomplejo es capturado en la membrana por el anticuerpo HBsAg no conjugado pre-recubierto, formando una coloración en la línea T, indicando un resultado positivo para HBsAg. La ausencia de la línea T indica un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (línea C) la cual muestra una coloración borgoña por la formación del inmunocomplejo de anticuerpos de control, que se forma independientemente de la línea T. El resultado de la prueba es inválido si la línea C no se colorea y debe ser repetida en un nuevo casete de prueba.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

1. Bolsas de aluminio selladas que contienen:
   a. Un dispositivo de casete
   b. Un desecante
   c. Gotero de plástico
3. Diluyente de muestra (REF SB-R0042, 5 mL/botella)
4. Un inserto (instrucciones de uso).

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

1. Control Positivo
2. Control Negativo

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN

1. Reloj o cronómetro
2. Lancetas

Imagen 13. Reactivos y materiales suministrados

- **PRECAUCIONES**

Para uso de Diagnóstico in Vitro

1. Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

2. No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.

3. No use los dispositivos si se encuentran vencidos

4. Atempere los reactivos de 15-30°C antes de usarlos.

5. No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit. 6. No utilice sangre hemolizada para la prueba.

7. Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.

8. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, el VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.

9. No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.

10. Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos. 11. Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma como a las muestras de los pacientes

12. Los resultados de las pruebas deben ser leídos entre 15-20 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de la ventana de 15-20 minutos deber ser considerada no válida y debe repetirse.

13. No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

- **PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2-30°C. Si se almacena de 2-8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleva a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y MANIPULACION**

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipule usando los procedimientos de bioseguridad.

Plasma

1. Recolecte la muestra en un tubo tapa lila, azul o verde (que contenga EDTA, Citrato o Heparina) por venopunción.

2. Separe el plasma por centrifugación.

3. Cuidadosamente transfiera el plasma a un tubo nuevo.

Suero

1. Recolecte por venopunción la muestra en un tubo tapa roja (sin anticoagulantes)

2. Espere la formación del coagulo

3. Separe el suero por centrifugación

4. Cuidadosamente transfiera el suero a un tubo nuevo

Procesar las pruebas lo más pronto posible a la toma de la muestra. Almacene las muestras de 2-8°C si no se van a procesar inmediatamente. Las muestras son estables almacenadas de 2-8°C durante 5 días. Las muestras pueden congelarse a -20°Ċ para almacenamientos prolongados.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación de las muestras. Antes del ensayo, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle con suavidad. Las muestras que

contengan partículas visibles, deben ser eliminadas por centrifugación antes de la prueba.

No use muestras lipémicas, hemolizadas o turbias ya que pueden generar interferencia en los resultados.

Sangre Total

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Las gotas de sangre total pueden obtenerse por punción digital o venopunción. No use sangre hemolizada para la prueba.

La sangre total puede almacenarse de 2-8°C si no se va a procesar inmediatamente. Las muestras deben ser procesadas antes de cumplirse 24 horas de su recolección.

- **PROCESAMIENTO**

Paso 1: Lleve las muestras y componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerada o congelada. Mezcle bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado.

Paso 2: Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.

Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.

Paso 4: Llene el gotero plástico con la muestra.

Sostenga verticalmente el gotero plástico, dispense 1 gota (aprox. 40-50 µL) de suero/plasma o 1 gota (aprox. 45-55 µL) de sangre total en el centro del pozo de muestra asegurándose de que no hayan burbujas.

Inmediatamente agregue 1 gota (aprox. 30-40 µL) de diluyente de muestra en el pozo de muestra (pozo S) con la botella posicionada verticalmente.



Imagen 14. Procesamiento

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
Coordinación de Laboratorio Clínico	Profesional de Calidad y Habilitación	Gerencia General

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Paso 5: Contabilice el tiempo.

Paso 6: Lea los resultados a los 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1min. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 20 min. Cualquier interpretación de los resultados fuera de los 15-20 min debe ser considerada inválida y la prueba debe repetirse. Después de interpretar los resultados, deseche el dispositivo según las normas locales.

- **CONTROL CALIDAD**

1. Control Interno: Esta prueba contiene un control incluido, la línea C. Esta se desarrolla después de adicionar la muestra y el diluyente. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.

2. Control Externo: Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, particularmente en las siguientes circunstancias:

a. Cuando un nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.

b. Cuando se inicia un nuevo kit.

c. Un nuevo envío de kits es utilizado.

d. Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2-30°C.

e. La temperatura del sitio de procesamiento esta por fuera de 15-30°C.

f. Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.

g. Investigar la causa de resultados in validos repetidos.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO: Se realiza semanalmente CONTROL POSITIVO pool de muestra positivas, CONTROL NEGATIVO solución salina, Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

1. RESULTADO NEGATIVO: Si solo se colorea la línea C, la prueba indica que el nivel de HBsAg en la muestra es indetectable. El resultado es negativo o no reactivo.



Imagen 15. Test

2. RESULTADO POSITIVO: Si se colorean ambas líneas C y T, la prueba indica que la muestra contiene HBsAg. El resultado es positivo o reactivo.



Imagen 16. Test

Las muestras con resultados positivos o reactivos deben ser confirmadas con métodos alternativos tales como ELISA y con la sintomatología clínica antes de tomar una decisión diagnóstica.

3. INVÁLIDO: Si la línea C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras líneas se tiñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.



Imagen 17. Test

Interferencia

Sustancias comunes (tales como medicamentos para el dolor y la fiebre y los componentes sanguíneos) pueden afectar el desempeño de la prueba. Esto fue estudiado mediante la adición de estas sustancias en tres niveles de controles de HBsAg. Los resultados se presentan en la

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

siguientes tabla y demuestran que las concentraciones probadas, y las sustancias no afectan el desempeño de ad-bio HBsAg Combo Rapid Test.

Nota: -: Negativa; +: Positiva; ++: Positivo Medio

Sustancias potencialmente interferentes adicionadas	Reactividad HBsAg		
	Negativo	Débil Positivo	Positivo Medio
Control	-	+	++
Bilirrubina 20 mg/dL	-	+	++
Creatinina 442 µmol/L	-	+	++
Glucosa 55 mmol/L	-	+	++
Albúmina 50 g/L	-	+	++
Acido salicílico 4.34 mmol/L	-	+	++
Heparina 3,000 U/L	-	+	++
EDTA 3.4 µmol/L	-	+	++
IgG Humana 1,000 mg/dL	-	+	++
Citrato de Sodio 3.8%	-	+	++

Imagen 18. Interferencia

- **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

1. El procedimiento del análisis y la interpretación de resultados de ensayo debe seguirse de cerca cuando se prueba la presencia de HBsAg en suero, plasma y sangre total de los pacientes. Si no se sigue el procedimiento puede dar resultados inexactos.

2. ad-bio HBsAg Combo Rapid Test se limita a la detección cualitativa de HBsAg en suero, plasma o sangre total humana. La intensidad del color de la banda no tiene correlación lineal con el título de HBsAg en la muestra.

3. Un resultado negativo o no-reactivo no excluye la posibilidad de no haberse expuesto o estar infectado con el VHB. Un resultado negativo o no-reactivo puede ocurrir si la cantidad de HBsAg no está presente durante el estado de la enfermedad cuando la muestra es recolectada.

4. Si los síntomas persisten, y los resultados de ad-bio HBsAg Combo Rapid Test son no- reactivos, es recomendable tomar una nueva muestra días después o realizar una prueba alternativa.

5. Algunas muestras que contienen alto título inusual de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoideo (>2.500 UI/mL) pueden afectar los resultados.

6. Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados junto con otros procedimientos diagnósticos y la sintomatología clínica.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

10.11 Prueba Rápida en Casete OnSite Chagas Ab Combo (Suero / Plasma / Sangre Total)

La prueba rápida OnSite Chagas Ab Combo Rapid Test un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral que permite la detección cualitativa de anticuerpo IgG para *Trypanosoma cruzi (T. cruzi)* en suero, plasma o muestras de sangre humanos. Está destinado a ser utilizado por profesionales de la salud como una ayuda en el diagnóstico de infecciones con *T. cruzi.*
Cualquier uso o interpretación de estos resultados preliminares debe tener en cuenta otras evidencias clínicas y la opinión profesional del personal de salud. Debe considerarse el uso de métodos alternativos para confirmar los resultados obtenidos por esta prueba.

- **RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA**

La enfermedad de Chagas es una infección zoonótica, transmitida por insectos, mediante el *protozoo T. cruzi,* el cual causa una infección sistémica en los seres humanos con manifestaciones agudas y secuelas a largo plazo. Se estima que de 16.000.000 a 18.000.000 personas se encuentran infectadas en todo el mundo, y mueren aproximadamente 50.000 personas cada año a debido a la enfermedad crónica de Chagas (OMS).

Los métodos más comunes en el diagnóstico de infección por *T. cruzi* aguda solían ser los exámenes de capa leucocitaria y xenodiagnóstico. Sin embargo, ambos métodos son muy dispendiosos y no presentan sensibilidad. Actualmente, una prueba serológica se ha convertido en el pilar fundamental para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. En particular, las pruebas basadas en antígenos recombinantes eliminan las reacciones de falsos positivos que se ven comúnmente en análisis de antígeno nativo.

El *OnSite* Chagas Ab Combo Rapid Test detecta anticuerpos IgG contra *T. cruzi* en suero, plasma o sangre total humana utilizando antígenos recombinantes especifico de *T. cruzi.* La prueba es fácil de usar en 15 minutos, sin necesidad de equipo de laboratorio engorroso, requiriendo un mínimo de capacitación del personal.

- **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

El *OnSite* Chagas Ab Combo Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral basado en el principio de inmunoensayo indirecto. La tira de casete consiste de: 1) una almohadilla de conjugado de color con un IgG antihumano conjugado con oro coloidal (conjugados igG antihumano) y un control de anticuerpo conjugado con oro coloidal, y 2) una tira de membrana nitrocelulosa con una línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

línea T se encuentra pre-recubierta con antigenos recombinantes de *T. cruzi*, y la línea C está pre-recubierta con anticuerpos de control.

Cuando se dispensa un volumen adecuado de muestra en el pozo del casete de prueba, la muestra migra por capilaridad a lo largo del casete. Si se presentan anticuerpos IgG contra *T. cruzi* en la muestra, éstos se unen a los conjugados IgG antihumano. Luego el inmunocomplejo es capturado en la membrana por los antígenos pre-recubiertos con *T. cruzi*, formando una línea T de color, indicando un resultado positivo para Chagas Ab.

La ausencia de la línea T sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (línea C) que debe exhibir una línea de color del inmunocomplejo de los anticuerpos de control que se forma independientemente de la presencia de la línea T. De no presentarse, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

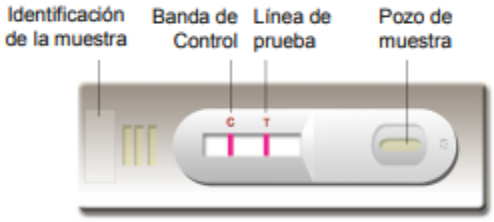


Imagen 1 Principio de la Prueba.

MATERIALES Y REACTIVOS SUMINISTRADOS

1. Bolsa de aluminio sellada que contiene:
a. Un dispositivo casete
b. Un desecante
2. Goteros de plástico
3. Diluyente de muestra (REF SB-R0171,5ML/botella)
4. Instrucciones de uso

- **MATERIALES QUE SON REQUERIDOS Y NO SUN SUMINISTRADOS**

1. Reloj o cronometro
2. Contenedor para mantener las muestras de prueba
3. Pipeta con puntas para volúmenes de 20 uL

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

Para uso de Diagnóstico in Vitro

Este inserto debe ser leído en su totalidad antes de llevar a cabo la prueba. De no ser así, se pueden presentar resultados imprecisos.
La bolsa de aluminio no se debe abrir, a menos que se vaya a realizar el ensayo inmediatamente.
No utilice dispositivos caducados.
Lleve todos los reactivos a una temperatura ambiente de 15°C -30°C antes de ser usados.
No utilice los componentes de otro tipo de kit de prueba para reemplazar los componentes del kit.
No utilice muestras de sangre hemolizadas para prueba
Utilice ropa protectora y guantes desechables durante la manipulación de los reactivos del kit y muestras clínicas. Lávese bien las manos luego de realizar la prueba.
Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de la transmisión de VIH, VHB y otros patógenos transmitidos a través de la sangre.
No se debe fumar, beber o comer en áreas donde se manipulen las muestras o reactivos del kit.
Deseche todas las muestras y materiales utilizados en la prueba como residuos biológicos peligrosos.
Manipule los controles Positivo y Negativo de la misma forma que con las muestras.
Los resultados de las pruebas deben leerse antes de 15 minutos después de aplicada la muestra en la cavidad del dispositivo o en la almohadilla de muestras del dispositivo. Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de los 15 minutos debe ser considerada no valida y la prueba debe repetirse.
No lleve a cabo la prueba en un cuarto con flujo de aire fuerte, por ejemplo, con un ventilador eléctrico o aire acondicionado.

- **PREPARACIÓN DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

Todos los reactivos suministrados están listos para su uso. Almacene el dispositivo de prueba sellado a una temperatura de 2°C a 30°C. Los controles positivo y negativo deben mantenerse a una temperatura de 2°C a 8°C. Si se almacenan bajo esta temperatura, asegúrese de que el dispositivo de prueba se encuentre a temperatura ambiente antes de abrirlo. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. No se debe congelar el kit ni exponer a una temperatura de más de 30°C.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA PRUEBA**

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Plasma/Suero

Paso 1: Recolecte la muestra por punción de la vena en el tubo con anticoagulante que contenga EDTA, citrato o heparina respectivamente para el plasma o en un tubo de colección que no contenga anticoagulantes para el suero.

Paso 2: Para preparar la muestra del plasma, centrifugue las muestras recolectadas y cuidadosamente transfiera el plasma en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Paso3: Para preparar las muestras de suero, deje la sangre coagular, después centrifugue las muestras recolectadas y cuidadosamente transfiera el suero en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Después de la recolección, realice el análisis de las muestras tan pronto como sea posible. Almacene las muestras a una temperatura de 2ºC a 8ºC en caso de no ser usada inmediatamente. Almacene las muestras a una temperatura 2ºC a 8ºC hasta por 5 días y congeladas a una temperatura de -20°C en caso de necesitar un almacenamiento más prolongado.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación. Antes del ensayo, permita que las muestras congeladas lleguen a una temperatura ambiente lentamente y luego mézclelas suavemente. Las muestras que contengan partículas visibles, deben ser aclaradas mediante centrifugación antes de la prueba.
No utilice muestras que presenten lipemia gruesa, hemolisis grave o turbidez con el fin de evitar interferencias en la interpretación de resultados.

Sangre Total

Paso 1: Las muestras de sangre total pueden ser obtenidas por punción de la punta del dedo o por extracción de la vena. Recolecte las muestras de sangre en un tubo que contenga EDTA, citrato o heparina. No utilice sangre hemolizada en las pruebas.

Las muestras de sangre total deben ser almacenadas en refrigeración a una temperatura de 2°C a 8°C en caso de no usarlas en la prueba. Las muestras deben analizadas en un plazo de 24 horas luego de la recolección.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **PROCEDIMIENTO**

Paso 1: Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados Una vez descongelada, mezcle bien la muestra antes de realizar el ensayo.

Paso 2: Una vez se esté listo para llevar a cabo el ensayo, abra la bolsa por la muesca y retire el dispositivo. Coloque el dispositivo de prueba en una superficie limpia y plana.

Paso 3: Asegúrese de etiquetar el dispositivo con el número de identificación de la muestra.

Paso 4: **Para prueba de sangre**
Aplique 1 gota de sangre (de 40 a 50 µL) en la cavidad para muestras.
Luego adicione inmediatamente 1 gota (de 35 a 50µL) de diluyente de muestra.

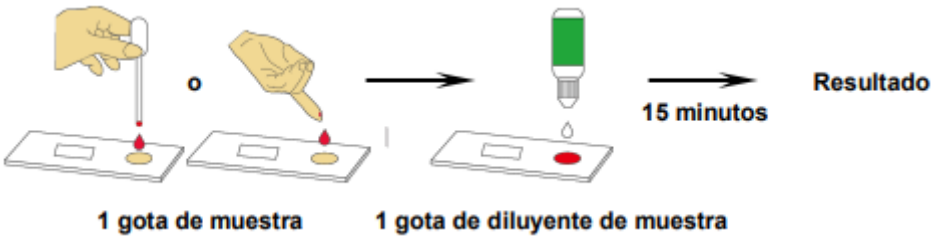


Imagen 2 Prueba de Sangre.

Para pruebas de suero o plasma
Vierta 20 µL de la muestra en el pozo de muestra.

la cavidad para muestras del dispositivo.
Agregue 2 gotas (de 70-100 µL) de Diluyente de Muestra Inmediatamente dentro del pozo de muestra con la botella en posición vertical.



Imagen 3 Prueba de suero o plasma.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Paso 5: Programe el cronómetro.
Paso 6: Lea los resultados a los 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 minuto. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 15 minutos. **Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de la ventana de 15 minutos deben ser considerados inválidos y el ensayo debe ser repetido. Tras interpretar los resultados deseche los dispositivos usados según las regulaciones locales.**

- **CONTROL DE CALIDAD**

1. Control interno: Esta prueba contiene una característica de control interno, la banda C. La línea C se genera luego de adicionar la muestra y el diluyente. De otro modo, revise en su totalidad el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.

2. Control externo: Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, con el fin de asegurar un adecuado rendimiento de la prueba, particularmente bajo las siguientes circunstancias:

Un nuevo operador utiliza el kit, antes de realizar el análisis de las muestras.
Se usa un nuevo kit de ensayo.
Se usa un nuevo envío de kits.
La temperatura usada durante el almacenamiento del kit se encuentra fuera de 2°C a 30°C.
La temperatura de la zona de ensayo se encuentra fuera de 15°C a 30°C.
Al verificar una frecuencia superior a la prevista de resultados positivos o negativos.
Al investigar la causa de resultados inválidos repetitivos.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO: Se realiza semanalmente CONTROL POSITIVO pool de muestra positivas, CONTROL NEGATIVO solución salina, Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

RESULTADO NEGATIVO: Si solo aparece la banda C coloreada, y hay ausencia de color en línea T indica que no hay presencia de anticuerpo detectable anti-*T.cruzi* en la muestra. En este caso el resultado es negativo o no reactivo.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS



Imagen 4. Resultado Negativo.

RESULTADO POSITIVO: Si adicionalmente a la presencia de la línea C, se colorea la línea T indica que no hay presencia detectable de anticuerpo anti-T. *cruzi* en la muestra.



Imagen 5. Resultado Positivo.

Las muestras con resultados positives deben ser confirmadas con métodos de análisis alternativos y hallazgos clínicos antes de tomar una determinación en el diagnóstico.

RESULTADO INVALIDADO: Si la línea C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que la otra línea se tiña. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.



Imagen 6. Resultado Invalidado.

- **CARACTERISCTICAS DE RENDIMIENTO**

Rendimiento clínico:

Un total de 214 muestras de sujetos susceptibles fueron analizadas con la prueba rápida OnSite Chagas Ab Combo y mediante una prueba comercial EIA para IgG. La siguiente tabla presenta la comparación de todos los sujetos:

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

	Prueba Rápida *OnSite* Chagas Ab Combo		
IgG EIA	**Positivo**	**Negativo**	**Total**
Positivo	13	1	14
Negativo	0	200	200
Total	13	201	214

Imagen 7. Rendimiento clínico.

Sensibilidad Relativa: 92.9%, Especificidad Relativa: 100%, Concordancia: 99.5%

- **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

1. El procedimiento de análisis y la interpretación de resultados del ensayo deben ser seguidos muy de cerca cuando se evalué la presencia de anticuerpos para anti- *T. cruzi* en suero, plasma o sangre de sujetos individuales. Si no se sigue el procedimiento pueden generarse resultados inexactos.

2. La prueba rápida OnSite Chagas Ab Combo se limita a la detección cualitativa de anticuerpos T. *cruzi* en suero, plasma o sangre humanos. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación lineal con el título de anticuerpo en la muestra.

3. Un resultado negativo para un individuo indica ausencia de anticuerpos detectables de anti- T. cruzi. Sin embargo, un resultado de prueba no reactivo no excluye la posibilidad de exposición a o de infección con T*. cruzi.*

4. puede presentarse un resultado negativo si la cantidad del anticuerpo anti- T. cruzi presente en la muestra se encuentra por debajo de los límites de detección del ensayo, o los anticuerpos detectados no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la cual se recoge la muestra.

5. Algunas muestras que contienen títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.

6. Los resultados obtenidos con esta prueba sólo deben interpretarse junto con otros procedimientos diagnósticos, así como con hallazgos clínicos.

10.12 OnSite Dengue IgG/IgM3.0 Combo Prueba Rápida en casete (Suero/Plasma/Sangre Total)

La prueba rápida OnSite Dengue IgG/IgM3.0 Combo es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección y diferenciación simultánea de IgG e IgM anti-virus del Dengue (DEN1, 2, 3 and 4) en suero, plasma o sangre total humana. Este es usado por profesionales como tamizaje y ayuda diagnóstica de infección con el virus del Dengue.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Se debe tener en cuenta otros resultados clínicos y la opinión del personal de salud al interpretar los resultados de esta prueba. Debe considerarse el uso de métodos diagnósticos alternativos para confirmar los resultados de este dispositivo.

- **RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA**

Los virus del Dengue, una familia con distintos serotipos de (Den 1,2,3,4), de cadena simple, envuelto, de los virus de ARN positivos. Los virus son transmitidos por picadura en el día or la familia *Stegemyia*, principalmente el *Aedes aegypti*, y Aedes *albopictus*. Hoy, más de 2.5 billiones de personas que viven en áreas tropicales de Asia, Africa, Australia, y las Americas están en riesgo de infectarse por Dengue. Se estima que100 milliones de casos de fiebre del dengue y 250,000 casos de dengue hemorrágico mortal ocurren anualmente en el mundo1-3 .

La detección serológica es el método más común para el diagnóstico de la infección con el virus del Dengue. La IgM anti-dengue aparece 3 días después de la exposición inicial y permanece en circulación por aproximadamente 30-60 días. Los niveles de IgG anti-dengue virus aumentan a los 7 días, alcanzan su pico de 2-3 semanas, y permanecen toda la vida4-6.

El OnSite Dengue IgG/IgM3.0 Combo Rapid Test utiliza proteínas recombinantes del dengue las cuales reconocen los anticuerpos IgG e IgM de los cuatro serotipos del virus. La prueba es fácil de usar, sin necesidad de equipo de laboratorio engorroso, requiriendo un mínimo de capacitación del personal.

- **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

El OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test es un inmunoensayo de cromatografía de flujo lateral. La prueba de casete consiste en: 1) una almohadilla de conjugado de color que contiene antígenos de la envoltura del dengue recombinante conjugado con aro coloidal (conjugados dengues) y un anticuerpo de control conjugado con oro coloidal 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de prueba (G y M) y una línea de control (C). La línea G es pre-cubierta con anticuerpos para la detección del virus anti dengue IgG, la linea M es pre-cubierta con anticuerpos para la detección del virus anti-dengue lgM y la línea C es pre-cubierta con un anticuerpo de control.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Cuando un volumen adecuado de muestra es dispensado en el pozo de muestra de casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si el virus anti dengue IgG está presente, se unirá con los conjugados del dengue. El inmunocomplejo es capturado por la línea con G pre cubierta con lgG anti-humano, formando una línea color la cual indica un resultado positivo del virus anti dengue y sugiriendo una infección secundaria o precedente del dengue.

El virus anti-dengue IgM, si está presente en la muestra, se unirá a los conjugados de dengue Ag. El inmunocomplejo es luego capturado por la línea M pre-cubierta en anti-humano lgM, demostrando una línea color, indicando un resultado positivo de anti dengue lgM y sugieriendo una infección primaria o secundaria del dengue. Un resultado positivo de IgM y IgG indica infección últimamente primaria o una infección secundaria temprana.

La ausencia de alguna línea G, M o T sugiere un resultado negativo. Cada prueba control interno (línea C) la cual debe exhibir una línea de color de los anticuerpos de color a pesar de la coloración de cualquier línea de prueba. Si la línea C no se desarrolla, los resultados de la prueba es inválidos y las muestras deber ser probadas otra vez con otro dispositivo.

- **REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**

1. Bolsa de aluminio sellada que contiene:
    a. Un dispositivo de casete
    b. Un desecante
2. Tubos capilares de 5 µL
3. Diluyente de Muestra (REF SB-R0061,5ML/ botella)
4. instrucciones de uso.

- **MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN**

1. Reloj o cronómetro
2. Dispositivo de punción para la prueba de sangre completa.

- **ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

Para uso de Diagnóstico *in Vitro*

1. Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos
2. No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

3. No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
4. Atempere los reactivos de 15 a 30°C antes de usarlos
5. No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
6. No utilice sangre sangre hemolizada para la prueba.
7. Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.
8. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.
9. No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
10. Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
11. Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma como a las muestras de los pacientes.
12. Los resultados de las pruebas pueden ser leídos 25 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Leer los resultados después de los 25 minutos puede generar resultados erróneos.
13. No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

- **PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2-30°C. Los controles positivos y negativos deben mantenerse 2-8°C**.** Si se almacena de 2-8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleva a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

- **RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA**

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Plasma/Suero

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Paso 1: Recolecte la muestra de sangre por venopunción a un tubo de recolección que contenga EDTA, citrato o heparina para plasma, o un tubo de recolección que no contenga anticoagulantes.

Paso 2: Para preparar la muestra de plasma, centrifugue las muestras recolectadas y retire cuidadosamente la plasma en un tubo nuevo pre-etiquetado.

Paso 3: Para preparar la muestra de suero, permita que la sangre coagule, centrifugue las muestras recolectadas y retire cuidadosamente el suero en un nuevo tubo pre-etiquetado.

Pruebe los especimenes tan pronto como sea posible después de la recolección. Almacene las muestras a 2-8°C si no se analizan de inmediato. Las muestras se pueden almacenar a 2-8°C durante hasta 5 días. Las muestras deben congelarse a -20°C para almacenamiento más largo.

Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Antes de la prueba, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle suavemente. Las muestras que contienen material particulado visible deben clarificarse por centrifugación antes de la prueba.

No utilice muestras que demuestren una lipemia gruesa, hemólisis macroscópica o turbidez para evitar interferencia con la interpretación del resultado.

Sangre Total

Paso 1: Las gotas de sangre pueden obtenerse por punción digital o venopunción. muestra de sangre en un tubo que contenga EDTA, Citrato o Heparina. No use sangre hemolizada para la prueba.

La sangre total debe almacenarse a 2-8°C si no va a ser procesada inmediatamente. Las muestras deben ser procesadas antes de cumplirse 24 horas de su recolección.

- **PROCESAMIENTO**

Paso 1: Lleve las muestras y componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerada o congelada. Mezcle bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado.

Paso 2: Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.

Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Paso 4: Llene el tubo capilar con el suero, plasma o sangre, no exceda la línea de muestra como se muestra en la imagen. El volumen es aprox 5µL. Para mayor precisión, transfiera la muestra con una pipeta que de exacto el volumen.

Con el tubo capilar en posición vertical, dispense la muestra en el centro del pozo de muestra **(pozo S)** asegurándose de que no hayan burbujas de aire.

Inmediatamente agregar 3 gotas (aprox.110-130 µL) de Diluyente de Muestra en el pozo de Buffer **(pozo B)**.

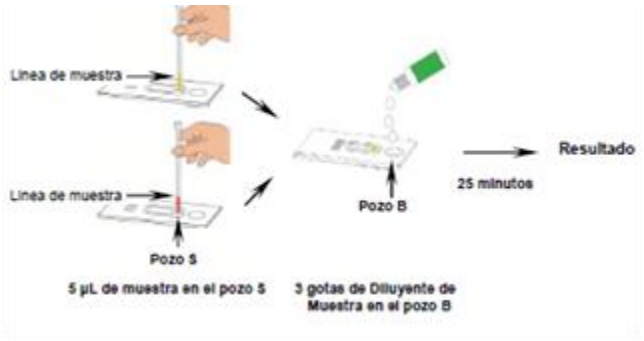


Imagen 6. Procesamiento.

Paso 5: Contabilice el tiempo.
Paso 6: Lea los resultados en 20 minutos. Los resultados positivos podrán ser visibles al minuto. Resultados negativos solamente pueden ser confirmados al fin de 25 minutos. **Cualquier resultado interpretado fuera de los 20-25 minutos es considerado inválido y debe ser repetido. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.**

- **CONTROL DE CALIDAD**

Control Interno: Esta prueba contiene un control incluido, la línea C. esta se desarrolla después de adicionar la muestra. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.

Control Externo: Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, particularmente en las siguientes circunstancias:
a. Cuando un nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.
b. Cuando se inicia un nuevo kit.
c. Un nuevo envío de kits es utilizado.
d. Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2°C - 30°C.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

e. La temperatura del sitio de procesamiento esta por fuera de 15°C -30°C.
f. Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.
g. Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO: Se realiza semanalmente CONTROL POSITIVO pool de muestra positivas, CONTROL NEGATIVO solución salina, Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

- **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

RESULTADO NEGATIVO: Si solo se colorea la banda C, hay ausencia de las bandas G y M indica que no hay anticuerpos anti- dengue en la muestra. El resultado es Negativo o no-reactivo.



Imagen 10. Resultado Negativo.

1. **RESULTADO POSITIVO**:

2.1 Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda G, el resultado indica la presencia de anti-dengue IgG; el resultado es IgG positiva o reactiva.



Imagen 11.

2.1 Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda M, el resultado indica la presencia de anti-dengue IgM; el resultado es IgM positivo o reactivo.



Imagen 12.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

2.2 Además de la presencia de la linea C, tanto la linea G como la M se colorean, la prueba indica la presencia de anti-dengue IgG e IgM. El resultado es IgG e IgM positivo o reactivo.



Imagen 13.

Les muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos alternativos y junto con la sintomatología clínica antes de hacer una determinación diagnóstica.

3. **INVALIDO:** Si la línea C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras líneas (G y M) se tiñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.



Imagen 14.

- **CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO**

1. Rendimiento Clínico para la prueba IgG

Un total de 326 muestras de pacientes susceptibles fueron probadas con la prueba rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM3.0 Combo con una prueba de EIA como referencia. La comparación se encuentra en la siguiente tabla:

	Prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM$^{3.0}$ Combo		
IgG EIA Test	**Positivo**	**Negativo**	**Total**
Positivo	36	1	37
Negativo	2	287	289
Total	38	288	326

Sensibilidad Relativa: 97.3% , Especificidad Relativa: 99.3%, Concordancia: 99.1%

Imagen 15.

Sensibilidad Relativa: 97.3% , Especificidad Relativa: 99.3%, Concordancia: 99.1%

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

2. Rendimiento Clínico para la prueba IgM

Un total de 314 muestras de pacientes susceptibles fueron evaluados con la Prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM3.0 Combo y un EIA de Referencia. La comparación se observa en la siguiente tabla:

	Prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM$^{3.0}$ Combo		
IgM EIA Test	**Positivo**	**Negativo**	**Total**
Positivo	31	1	32
Negativo	3	279	282
Total	34	280	314

Sensibilidad Relativa: 96.9% , Especificidad Relativa: 98.9%, Concordancia: 98.7%

Imagen 16.

2. <u>Reactividad cruzada</u>

Ningún resultado positivo falso anti-dengue IgG e IgM fue observado en 1-13 muestras de las siguientes enfermedades y condiciones específicas:

VHA VHB VHC VEH VIH H. pylori

CMV Chagas Chikungunya Hcg Rubéola T. gondiiTyphi T. pallidum ANA HAMA FR (hasta 8.400 U/mL)

3. I<u>nterferencia</u>

<u>Sustancias</u> comunes (como los analgésicos, antipiréticos y componentes de la sangre) pudieran afectar el rendimiento del OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test. Esto fue estudiado mediante la adición de saltando estas sustancias en muestras de anti-dengue IgG negativo y positivo, y anti-dengue IgM negativo y positivo. Los resultados demuestran que las concentraciones que fueron probadas no afectaron el desempeño del OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test.

Lista de sustancias potencialmente interferentes y concentraciones ensayadas:

Albumina	60 g/L	Cafeina	20 mg/dL
Acetaminofeno	20 mg/dl.	EDTA	3.4 µmol/L
Atropina	20 mg/dL	Hemoglobina	2 g/L
Aspirina	20 mg/dL	Heparina	3,000 U/L

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Acido ascórbico	20 mg/dL	IgG	1,000 mg/dl.
Bilirubina	20 mg/dL	Glucosa	55 mmol/L
Creatinina	442 µmol/L	Acido salicílico	4.34 mmol/L
Citrato de sodio	3.80%		

- **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

El procedimiento de la prueba y la interpretación de los resultados debe ser analizada cuando se detectan anticuerpos contra el dengue en suero, plasma o sangre total. Cualquier falla en el procedimiento puede llevar a resultados erróneos.

La prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM3.0 Combo se limita a la detección cualitativa de anticuerpos contra el virus del Dengue en suero, plasma o sangre total humana. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación con el título de anticuerpos en la muestra.

La información de los serotipos del dengue no es proporcionado con este examen.

La prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM3.0 Combo no se puede usar para diferenciar infección primaria de la secundaria.

La reactividad cruzada con otros flavivirus es común (ej: Encefalitis japonesa, Virus del Nilo, Fiebre amarilla, etc) por lo tanto, es posible que los pacientes infectados con estos virus muestren cierto grado de reactividad con esta prueba.

Un resultado negativo o no-reactivo indica la ausencia de anticuerpos detectables del virus del dengue. Sin embargo los resultados no concluyen la posibilidad de la exposición o infección con el virus.

Un resultado negativo o no-reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos contra el dengue presentes en la muestra son menores al límite de detección de la prueba, o los anticuerpos detectados no están presentes en el estadio de la infección cuando es recolectada la muestra.

Algunas muestras contienen anticuerpos heterófilos o factor reumatoideo lo cual puede afectar los resultados.

Si los síntomas persisten y la prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM3.0 Combo da resultado negativo o no-reactivo, es recomendable tomar una nueva muestra días despues o usar algún método diagnóstico alternativo.

Los resultados obtenidos deben ser interpretados junto con otros métodos diagnósticos y la historia clínica del paciente.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

10.13 Prueba Rápida en Casete OnSite HAV IgM (Suero / Plasma)

La prueba rápida OnSite HAV IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral que permite la detección cualitativa de anticuerpo IgM para el virus de Hepatitis A (VHA) en suero o plasma humanos. Se utiliza como prueba de tamizaje y como ayuda en el diagnóstico de infecciones con HAV. Cualquier muestra reactiva con la prueba rápida OnSite HAV IgM debe ser certificada a través de la aplicación de métodos alternativos de ensayo y hallazgos clínicos.

- **RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA**

El VHA es un virus del ARN positivo, un miembro único de picornavirdae1 . Su transmisión depende principalmente de la transmisión serial de persona a persona por vía fecal-oral. Aunque la hepatitis A no es generalmente una enfermedad de transmisión sexual, la tasa de infección es alta entre los homosexuales masculinos, como resultado del contacto oral-anal2,3.

La presencia de anticuerpos específicos IgM anti-VHA en muestras de sangre sugiere una infección por VHA aguda o reciente4-6 . El anticuerpo IgM aumenta rápidamente en el título durante un periodo de 4-6 semanas después de la infección, y luego disminuye a niveles no detectables dentro de 3 a 6 meses en la mayoría de los pacientes7 .
La prueba rápida OnSite HAV IgM puede ser usada para detectar IgM anti-VHA en menos de 15 min por personal no instruido o mínimamente experto, sin necesidad de complicados equipos de laboratorio.

- **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba rápida OnSite HAV IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. Los casetes de prueba contienen: 1) una almohadilla de conjugado de color borgoña con contenido de anticuerpo de ratón IgM anti-humano conjugada con coloide oro (conjugados IgM), y 2) una tira nitrocelulosa con una banda de prueba (Banda T) y una banda control (Banda C). La banda T esta pre-recubierta con antígeno recombinante de VAH, y la Banda C está pre-recubierta con anticuerpos de cabra anti-ratón.

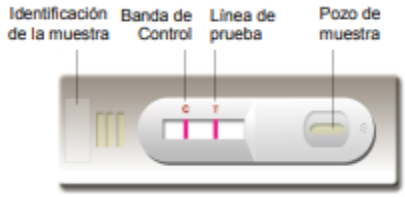


Imagen 18.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

En el momento en que se vierte la cantidad adecuada de muestra en la cavidad para muestras del dispositivo, la muestra se desplaza mediante una acción capilar a través del casete. Si hay presencia de anti-HAV IgM en la muestra esta se unirá con los conjugados de IgM. El inmunocomplejo es capturado en la membrana por el antígeno HAV, formando una banda T coloreada, inicando un resultado positivo para HAV IgM.

La ausencia de la banda indica un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (Banda C) el cual debe mostrar una banda de color borgoña del inmunocomplejo conjugado de cabra anti IgG/conjugado IgM-oro que se forma independientemente de la banda T. De otra forma, el resultado de la prueba será inválido y se debe volver a analizar la muestra con otro dispositivo.

- **REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**

1. Cada kit contiene 25 o 30 dispositivos de prueba, cada uno está sellado en bolsas de aluminio con los siguientes artículos:
 a. Un dispositivo casete
 b. Un desecante
2. Goteros de plástico
3. Diluyente de muestra (1 vial, 5 ml)
4. Un inserto (instrucciones de uso)

- **MATERIALES QUE SON REQUERIDOS Y NO SON SUMINISTRADOS**

1. Control Positivo
 2. Control Negativo

- **MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO SE SUMINISTRAN**

Reloj o temporizador
Dispositivo de punción para pruebas de sangre completa.

- **ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

Para uso de diagnóstico in Vitro

Este inserto debe ser leído en su totalidad antes de llevar a cabo la prueba. De no ser así, se pueden presentar resultados imprecisos.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

La bolsa de aluminio no se debe abrir, a menos que se vaya a realizar el ensayo inmediatamente.
No use el dispositivo después de caducado.
Lleve todos los reactivos a una temperatura ambiente de 15°C -30°C antes de ser usados.
No utilice los componentes de otro tipo de kit de prueba para reemplazar los componentes del kit.
No utilice muestras de sangre hemolizadas para ensayo.
Utilice ropa protectora y guantes desechables durante la manipulación de los reactivos del kit y muestras clínicas. Lávese bien las manos luego de realizar la prueba.
Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de la transmisión de VIH, VHB y otros patógenos transmitidos a través de la sangre.
No se debe fumar, beber o comer en áreas donde se manipulen las muestras o reactivos del kit.
Deseche todas las muestras y materiales utilizados en la prueba como residuos biológicos peligrosos.
Manipule los controles Positivo y Negativo de la misma forma que con las muestras.
Los resultados de las pruebas deben leerse 15 minutos después de aplicada la muestra en la cavidad del dispositivo o en la almohadilla de muestras del dispositivo. Si se realiza la lectura del resultado después de los 15 minutos puede dar resultados erróneos.
No lleve a cabo la prueba en un cuarto con flujo de aire fuerte, por ejemplo, con un ventilador eléctrico o aire acondicionado.

- **PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

Todos los reactivos suministrados están listos para su uso. Almacene el dispositivo de prueba sellado a una temperatura de 2°C a 30°C. Los controles positivo y negativo deben mantenerse a una temperatura de 2°C a 8°C. Si se almacenan bajo esta temperatura, asegúrese de que el dispositivo de prueba se encuentre a temperatura ambiente antes de abrirlo. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. No se debe congelar el kit ni exponer a una temperatura de más de 30°C.

- **RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y MANIPULACIÓN**

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Plasma/Suero

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Paso 1: Recolecte la muestra por punción de la vena en un tubo con anticoagulante que contenga EDTA, citrato o heparina respectivamente para el plasma o en un tubo de colección que no contenga anticoagulantes para el suero.

Paso 2: Para preparar la muestra de plasma, centrifugue las muestras recolectadas y cuidadosamente transfiera el plasma en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Paso 3: Para preparar la muestra de suero, deje la sangre coagular, después centrifugue las muestras recolectadas y cuidadosamente transfiera el suero en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Evalúe las muestras lo más pronto posible después de su colecta. Almacene las muestras de 2-8°C, si no van a ser evaluados inmediatamente. Las muestras pueden ser almacenadas a 2- 8°C por hasta 5 días. Las muestras deben congelarse a -20°C si se requieren períodos de almacenamientos más prolongados.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación. Antes del ensayo, lleve lentamente las muestras congeladas a temperatura ambiente y mézclelas con suavidad. Las muestras que contengan partículas visibles deben ser clarificadas por centrifugación antes de la prueba. No utilice muestras que muestren altos niveles de lipemia, hemólisis o turbidez para evitar interferencias en los resultados.

Sangre Total

Paso 1: Las muestras de sangre total pueden ser obtenidas por punción de la punta del dedo o por extracción de la vena. Recolecte la muestra de sangre en un tubo que contenga EDTA, citrato o heparina. No use sangre hemolizada.

Las muestras de sangre total deben ser almacenadas en refrigeración (2-8°C) si no van a ser evaluadas inmediatamente, pero deben usarse dentro de las 24 horas desde su recolección.

- **PROCEDIMIENTO**

Paso 1: Lleve los componentes de ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados. Descongele las muestras de suero o plasma si almacenadas congeladas. Las muestras de sangre deben almacenarse refrigeradas (2-8°C) y deben analizarse dentro de las 24 horas posteriores a la recolección. Una vez descongelada, mezcle bien la muestra antes de realizar el ensayo.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Paso 2: Cuando esté listo para realizar la prueba, abra la bolsa y ponga el dispositivo en una superficie plana y limpia.
Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación de la muestra.
Paso 4: Tome la muestra con el capilar hasta la línea de muestra cómo se observa en la imagen más abajo. **mayor precisión, transfiera la muestra usando una pipeta capaz de dispensar volúmenes de 5 µL.**
Sosteniendo el capilar verticalmente, dispense todo el volumen en el pozo de la muestra (**Pozo S**), cuidando que no se formen burbujas de aire.

Inmediatamente después añada 2 gotas (cerca de 60-80 µL) de diluente de la muestra (**Pozo B**) con la botella en posición vertical.



5 µl suero/plasma al Pozo S **2 gotas de diluente de muestra al Pozo B**

Imagen 19.



5 µL de sangre al Pozo de muestra **2 gotas de diluente de muestra al Pozo B**

Imagen 20.

Paso 5: Comience a medir el tiempo.
Paso 6: Los resultados pueden leerse entre los 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 minutos. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 20 minutos. **Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de la ventana de 15-20 minutos deber ser considerada no válida y el ensayo debe ser repetido. Tras Interpretar los resultados deseche los dispositivos usados según las regulaciones locales.**

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **CONTROL DE CALIDAD**

1. **Control Interno:** Esta prueba contiene un control incluido, la banda C. esta se desarrolla después de adicionar la muestra y el diluyente. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO: Se realiza semanalmente CONTROL POSITIVO pool de muestra positivas, CONTROL NEGATIVO solución salina, Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

RESULTADO NEGATIVO: Si sólo aparece la banda C, la prueba indica que en la muestra no se presentan IgM anti-HAV detectables, dando un resultado negativo.



Imagen 21.

RESULTADO POSITIVO: Si tanto la banda C como la banda T aparecen, la prueba indica la presencia de IgM anti-HAV en la muestra, presentando un resultado positivo.



Imagen 22.

Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos de análisis alternativos y hallazgos clínicos antes de tomar una determinación en el diagnóstico. Los niveles de factor Reumatoideo de > 1000 Ul7Ml pueden resultar en resultados erróneos. vea la sección Limitaciones del ensayo con un nuevo dispositivo.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **RESULTADO NO VALIDO:** Si no se genera una banda C, el ensayo no es válido sin importar que se haya creado una línea de color en la banda T como se muestra a continuación. La prueba se debe repetir con un nuevo dispositivo.



Imagen 23.

- **CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO**

1. **Desempeño clínico**

Se evaluaron 306 muestras de sujetos susceptibles usando la OnSite HAV IgM Rapid Test y un ELISA comercial en Europa y otras regiones. La comparación de todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla:

	Prueba Rápida *OnSite* HAV IgM		
EIA	**Positivo**	**Negativo**	**Total**
Positivo	21	1	22
Negativo	0	178	178
Total	21	179	200

Sensibilidad Relativa: 95.5%, Especificidad Relativa: 100%, Concordancia: 99.5%

Imagen 24.

2. **Reactividad Cruzada**

No se observaron resultados falsos positivos para anti-VHA IgM al evaluar 3-10 muestras de cada una de las siguientes enfermedades o condiciones especiales:

Dengue VHB VHC VHE VIH
Malaria TB T. pallidum Fiebre Tifoidea ANA
FR (hasta 1,000 U/mL)

3. **Interferencia**

Se estudió la interferencia en el desempeño de la OnSite HAV IgM Rapid Test por sustancias comúnmente encontradas con libre adquisición y otros medicamentos bajo prescripción médica, así como componentes de la sangre. Estas sustancias fueron añadidas a estándares con tres niveles de reactividad: negativo, positivo débil y positivo fuerte. Los resultados se presentan en la tabla abajo. A las concentraciones ensayadas no se observó interferencia.

Lista de sustancias potencialmente interferentes y concentraciones ensayadas:

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

1. Albumina 60 g/L
2. Bilirrubina 20 mg/Dl
3. Creatinina 442 µmol/L
4. EDTA 3.4 µmol/L
5. Glucosa 55 mmol/L
6. Hemoglobina 2 g/L
7. Heparina 3,000 U/L
8. IgG humana 1,000 mg/dL.
9. Ácido Salicílico 4.34 mmol/L
10. Citrato de Sodio 3.0%

4. **Panel BBI**

El panel de seroconversión de HAV PHT903 (BBI) se evaluó con la OnSite HAV IgM Rapid Test. Los resultados se presentan en la tabla de abajo.

Panel BBI PHT903	Abbott AxSYM HAV IgM S/co*	*OnSite* HAV IgM Rapid Test
01	0.1	Negativa
02	0.1	Negativa
03	4.8	Positiva
04	4.8	Positiva
05	4.8	Positiva
06	4.1	Positiva
07	2.0	Positiva
08	1.4	Positiva
09	1.2	Positiva
10	1.3	Positiva

*Proporción S/co ≥ 1.0 se considera positivo

Imagen 25.

- **LIMITACIÓN DE LA PRUEBA**

El procedimiento de análisis y la interpretación de resultados del ensayo deben ser seguidos muy de cerca cuando se evalué la presencia de IgM anti-HAV en el suero o plasma de sujetos individuales. Si no se sigue el procedimiento pueden generarse resultados inexactos.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

La prueba rápida OnSite HAV IgM se limita a la detección cualitativa de IgM anti-HAV en en suero o plasma humano. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación lineal con la concentración de anticuerpos en la muestra.
Un resultado negativo para un individuo indica ausencia de IgM anti-HAV detectable. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o infección con VAH. Puede presentarse un resultado negativo si la cantidad de IgM anti-HAV presente en la muestra se encuentra por debajo de los límites de detección del ensayo, o los valores que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la cual se recoge una muestra.
Algunas muestras que contienen títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.
Los resultados obtenidos con esta prueba sólo deben interpretarse junto con otros procedimientos diagnósticos, así como con hallazgos clínicos.

10.14 Prueba Rápida en Casete OnSite HCV Ab Plus (Suero / Plasma)

La prueba rápida OnSite HCV Ab Plus es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral de doble antígeno, para la detección cualitativa de los anticuerpos (IgG, IgM, IgA) contra el virus de la Hepatitis C en suero o plasma humana. Este es usado por los profesionales para el tamizaje y ayuda diagnostica de la infección con VHC. Las muestras reactivas con la prueba rápida OnSite HCV Ab Plus deben ser confirmadas con métodos alternativos y la sintomatología clínica.

- **RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA**

El virus de la Hepatitis C (VHC), ha sido descrita como una forma transmitida parenteralmente de hepatitis no-A, no-B (NANBH) 1 , la cual se convierte en una enfermedad crónica en el 50% de los casos2 . El VHC también puede transmitirse por el uso de drogas de abuso intravenosas y contacto sexual3 .

El virus de la hepatitis C se compone de una cadena simple de ARN con algunas relaciones estructurales con la familia del flavivirus. Las secuencias de ácido nucleico de los clones de ADNc del VHC proporcionan la base para la construcción de los péptidos recombinantes que representan las proteínas de virus de hepatitis C putativo4,5 . La detección de anticuerpos del virus anti-hepatitis C en la sangre utilizando proteínas recombinantes o sintéticos, ayudó a identificar a los donantes de sangre aparentemente sanos con anticuerpos anti-HCV que de otra manera podría haber transmitido el virus. Por lo tanto, La prueba rápida OnSite HCV Ab Plus es una herramienta útil para la detección de seguridad de los bancos de sangre.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

La prueba rápida OnSite HCV Ab Plus es desarrollada para la detección de anticuerpos incluyendo IgG, IgM e IgA contra el virus de la Hepatitis C en suero o plasma humana. La prueba se pueden usada por trabajadores de la salud con una capacitación mínima y sin equipos de laboratorio.

- **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba rápida OnSite HCV Ab Plus es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral de doble antígeno. La prueba del casete consiste en lo siguiente: 1) una almohadilla con conjugado coloreado de borgoña que contiene los antígenos de fusión recombinantes de VHC (Núcleo, NS3, NS4 y NS5) conjugado con oro coloidal (conjugados VHC), y un control de anticuerpo conjugado con oro coloidal, 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene las bandas de prueba (banda T) y la banda control (banda C). la banda T se encuentra recubierta con antígenos de HVC recombinantes, y la banda C está recubierta con un control de anticuerpo.

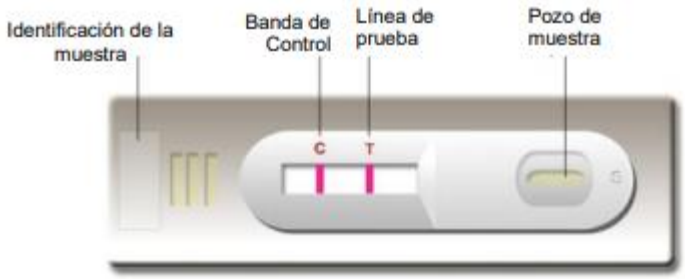


Imagen 33.

Cuando es dispensado un volumen adecuado de muestra en el pozo de muestra del casete de prueba, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Los anticuerpos IgG, IgM, o IgA contra el VHC, si están presentes en la muestra se unirán con los conjugados del VHC. El inmunocomplejo es capturado entonces en la membrana por los antígenos de fusión de VHC pre-recubiertos, no conjugados formando una banda de color borgoña en la línea T, indicando un resultado positivo de la prueba o reactiva para VHC Ab. La ausencia de color en la banda T sugiere un resultado negativo de la prueba.

La prueba contiene un control interno (banda C) la cual muestra un color borgoña por la formación del inmunocomplejo de anticuerpos de control, independientemente de la formación del color en la banda T. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

- **REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**

1. Bolsas de aluminio selladas que contiene:

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

a. Un dispositivo de casete
b. Un desecante

2. Goteros de plástico
3. Diluyente de muestra (REF SB-R0023C, 5 ml/botella) 4. Un inserto (instrucciones de uso).

- **MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN**

1. Reloj o cronómetro

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso de Diagnóstico in Vitro.

1. Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos.
2. No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.
3. No use los dispositivos si se encuentran vencidos
4. Atempere los reactivos de 15°C a 30°C antes de usarlos.
5. No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
6. No utilice sangre sangre hemolizada para la prueba.
7. Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.
8. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, el VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.
9. No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
10. Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
11. Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma como a las muestras de los pacientes. **12**. Los resultados de las pruebas pueden ser leídos 15 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Leer los resultados después de los 20 minutos puede generar resultados erróneos.
13. No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2°C - 30°C. Los controles positivos y negativos deben mantenerse 2°C - 8°C. Si se almacena de 2°C - 8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleva a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

- **RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y MANIPULACIÓN**

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Plasma
Paso 1: Recolecte la muestra en un tubo tapa lila, azul o verde (que contenga EDTA, Citrato o Heparina) por venopunción.
Paso 2: Separe el plasma por centrifugación.
Paso 3: Cuidadosamente transfiera el plasma a un tubo nuevo.
Suero
Paso 1: Recolecte por venopunción la muestra en un tubo tapa roja (sin anticoagulantes)
Paso 2: Espere la formación del coagulo
Paso 3: Separe el suero por centrifugación
Paso 4: Cuidadosamente transfiera el suero a un tubo nuevo

Procesar las pruebas lo más pronto posible a la toma de la muestra. Almacene las muestras de 2°C a 8°C si no se van a procesar inmediatamente. Las muestras son estables almacenadas de 2°C a 8°C durante 5 días. Las muestras pueden congelarse a -20°Ċ para almacenamientos prolongados.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación de las muestras. Antes del ensayo, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle con suavidad. Las muestras que contengan partículas visibles, deben ser eliminadas por centrifugación antes de la prueba.

- **PROCESAMIENTO**

Paso 1: Lleve las muestras y componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerada o congelada. Mezcle bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Paso 2: Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.
Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.
Paso 4: Llene el gotero con la muestra.

Con el gotero en posición vertical, dispense 1 gota (aprox 30-40 µL) de la muestra dentro del pozo de muestra asegurándose de que no se formen burbujas.

Inmediatamente adicione 1 gota (aprox 35-50 µL) de diluyente de la muestra en el pozo de muestra con la botella en posición vertical.

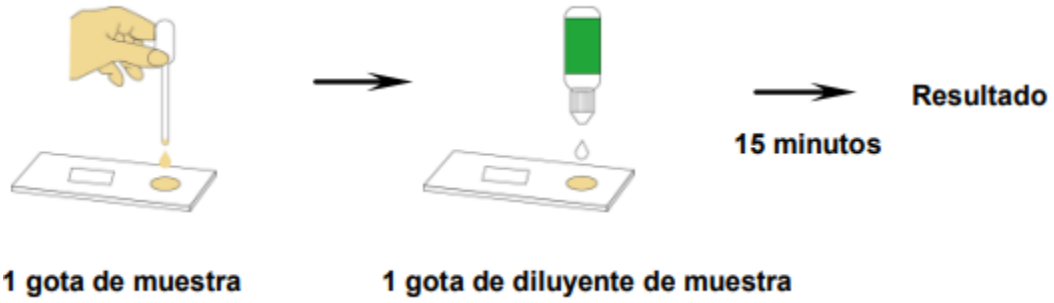


Imagen 34.

Paso 5: Contabilice el tiempo.
Paso 6: Los resultados deben ser leídos a los 15 minutos. Los resultados positivos o reactivos se hacen visibles transcurrido 1 minuto.

No lea los resultados después de 20 minutos. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.

- **CONTROL CALIDAD**

1. Control Interno: Esta prueba contiene un control incluido, la banda C. Esta se desarrolla después de adicionar la muestra y el diluyente. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.
2. Control Externo: las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, particularmente en las siguientes circunstancias:

a. Cuando un nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.
b. Cuando se inicia un nuevo kit.
c. Un nuevo envío de kits es utilizado.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

d. Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2°C - 30°C.
e. La temperatura del sitio de procesamiento esta por fuera de 15°C -30°C.
f. Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.
g. Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO: Se realiza semanalmente CONTROL POSITIVO pool de muestra positivas, CONTROL NEGATIVO solución salina, Se registran controles en el formato LC-F-050 CONTROL DE CALIDAD PRUEBAS DE INMUNOLOGIA.

- **INTERPRETACIÓN DES RESULTADOS**

1. **RESULTADO NEGATIVO O NO REACTIVO:**
   Solo si se visualiza la banda C coloreada, y hay ausencia de color en la banda T indica que no hay presencia de anticuerpos anti-HVC en la muestra. El resultado es No-reactivo.
2. RESULTADO POSITIVO: Ambas bandas C y T desarrollan color, la prueba indica la presencia de anticuerpos contra el VHC en la muestra. El resultado es reactivo.



Imagen 35.

Las muestras con resultados reactivos deben ser confirmados con métodos alternativos y junto con las sintomatología clínica antes de hacer una determinación como positive.

3. **RESULTADO INVALIDO:** Si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras bandas se tiñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.



Imagen 36.

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
Coordinación de Laboratorio Clínico	Profesional de Calidad y Habilitación	Gerencia General

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

- **CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO**

1. Desempeño clínico Un total de 1050 muestras fueron recolectadas y probadas con la prueba rápida OnSite VHC Ab Plus y como referencia se tuvo el kit de ELISA. La comparación de todos los individuos se muestra en la siguiente tabla:

	Prueba Rápida *OnSite* HCV Ab Plus		
ELISA	**Positivo**	**Negativo**	**Total**
Positivo	312	4	316
Negativo	3	731	734
Total	315	735	1050

Sensibilidad Relativa: 98.7%, Especificidad Relativa: 99.6%, Concordancia: 99.3%

Imagen 37.

Panel de rendimiento en todo el mundo El panel de rendimiento en el mundo (WWHV301) del BBI (Boston Biomedica Inc.) fue evaluado con la prueba rápida OnSite HCV Ab Plus. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

Member ID	Origin	Genotype	Abbott EIA	Prueba Rápida *OnSite* HCV Ab Plus
301-01	Argentina	1b	Positivo	Positivo
301-02	Argentina	1b	Positivo	Positivo
301-03	Argentina	3a/b	Positivo	Positivo
301-04	Argentina	2a/c	Positivo	Positivo
301-05	Argentina	Not tested	Negativo	Negativo
301-06	Uganda	4c/d	Positivo	Positivo
301-07	Uganda	Not tested	Positivo	Positivo
301-08	Ghana	Not tested	Negativo	Negativo
301-09	China	1b, 2a/c	Positivo	Positivo
301-10	China	2	Positivo	Positivo
301-11	China	1b	Positivo	Positivo
301-12	China	2	Positivo	Positivo
301-13	China	1a/b,2a/c	Positivo	Positivo
301-14	Egypt	3a	Positivo	Positivo
301-15	Egypt	4	Positivo	Positivo
301-16	Egypt	4h	Positivo	Positivo
301-17	Egypt	Not tested	Positivo	Positivo
301-18	USA	1b	Positivo	Positivo
301-19	USA	1a	Positivo	Positivo
301-20	USA	1a	Positivo	Positivo

Imagen 38.

3.Seroconversión Panel

El panel de seroconversión (PHV910 –(M)) de BBI (Boston Biomedica Inc.) donde fueron evaluadas las pruebas rápidas HCV Ab Plus OnSite. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Member ID	Days bleeding	Abbott HCV EIA 2.0 s/co*	Prueba Rápida *OnSite* HCV Ab Plus Combo
910-01	0	0.2	Negativo
910-02	4	0.3	Negativo
910-03	8	1.3	Positivo
910-04	11	2.9	Positivo
910-05	15	2.4	Positivo

Imagen 39.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

* Los resultados del EIA son expresados en absorbancia del rango del punto de corte. Porcentajes >1.0 son considerados reactivos.

- **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

1. El procedimiento del análisis y la interpretación de resultados de ensayo debe seguirse de cerca cuando se prueba la presencia de anticuerpos contra VHC en suero o plasma de los pacientes. Si no se sigue el procedimiento puede dar resultados inexactos.

2. La prueba rápida OnSite HCV Ab Plus se limita a la detección cualitativa de los anticuerpos para VHC en suero o plasma humana. La intensidad del color de la banda no tiene correlación lineal con el título de anticuerpos en la muestra.

3.Un resultado no-reactivo de un individuo indica la ausencia de anticuerpos detectables de VHC, un resultado no-reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección por VHC.

4. Un resultado no-reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos anti VHC presentes en la muestra en menor a los límites de detección de la prueba, o los anticuerpos que son detectados no están presentes en la etapa de la enfermedad en la que es recolectada la muestra.
5. Algunas muestras que contienen alto título inusual de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoideo pueden afectar los resultados.
6. Si los síntomas persisten, y los resultados de la prueba OnSite HCV Ab Plus son noreactivos, es recomendable tomar una nueva muestra días después o realizar una prueba alternativa.
7. Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados junto con otros procedimientos diagnósticos y la sintomatología clínica.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

11. BIBLIOGRAFÍA

1. ELITechGroup B.V. 2014. Francia.Manual de usuario Selectra ProM.17 paginas.
2. Inserto de reactivo ELITECH Recuperado en https://jampar.com.pe/web/productos/reactivos/. Fecha de consulta octubre 2017.
3. Insero de hemoglobina glicosilada Multicare HbA1c: http://www.biosystemsantioquia.com.co/images/docs/reactivos/diabetes/multicare/03ms10-sd-multicare-hba1c-test-kit.pdf
4. World Health Organization. Control of Chagas disease: report of a WHO expert committee. 1991.
5. Frasch ACC, Reyes MB, Sanchez DO. Diagnosis of Chagas disease: present and future. In: Chagas' disease and the nervous system. Washington, DC: pan American Health Organization. 1994: 47-53.
6. Frasch AC, Reyes MB. Diagnosis of Chagas disease using recombinant DNA technology. Parasitol Today. 1990,6(4):137-9.
7. Lorca M, Gonzalez A, Reyes V, Veloso C, Vergara U, Frasch C. [The diagnosis of chronic Chagas disease using recombinant antigens of Trypanosoma cruzi] Rev Med Chil. 1993 121(4):363-8.
8. da Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinant Trypanosoma cruzi antigens for serological diagnosis. Trends Parasitol. 2001, 17(6):286-91.
9. Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. Emerg Infect Dis 1995;1(2):55–57.
10. Gubler DJ, Trent DW. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. Infect Agents Dis 1994;2:383–393
11. Monath TP. Dengue: The risk to developed and developing countries. Proc Natl Acad Sci U S A 1994;91:2395–2400.
12. Price DD, Wilson SR, Dengue Fever, e-medicine, http://www.emedicine.com/EMERG/topic124.htm, Jan, 2002.
13. Innis BL, and Nisalak A, et al: An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where denude and Japanese encephalitis co-circulate. Am. J. Trap. Med. Hygiene. 1989: 40: 418-427.
14. Anonymous. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1997.
15. Minor P. Picornaviridae. In: Francki RIB, Fauquet CM, Knudson DL, et al., eds. Classification and nomenclature of viruses (Arch Virol Supp 2). Wien: Springer-Verlag, 1991: 320-326

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS

16. Keeffe EB. Clinical approach to viral hepatitis in homosexual men. Med Clin North Am. 1986;70(3):567-86.
17. Ballesteros J, Dal-Re R, Gonzalez A, del Romero J. Are homosexual males a risk group for hepatitis A infection in intermediate endemicity areas? Epidemiol Infect. 1996; 117(1):145-8.
18. Bradley DW, Maynard JE, Hindman SH, et al: Serodiagnosis of viral hepatitis A: Detection of acute-phase immunoglobulin M anti-hepatitis A virus by radioimmunoassay. J Clin Microbiol 1977; 5: 521-530.
19. Decker RH, Kosakowski SM, Vanderbilt AS, et al: Diagnosis of acute hepatitis A by HAVAB-M : A direct radioimmunoassay for IgM anti-HAV. Am J Clin Pathol 1981;76:140-147.
20. Locarnini SA, Ferris AA, Lehman NI, et al: The antibody response following hepatitis A infection. Intervirology 1974; 4:110-118.
21. Skinhoj P, Mikkelsen F, Hollinger FB. Hepatitis A in Greenland: Importance of specific antibody testing in epidemiologic surveillance. Am J. Epidemiol 1977; 105: 104-147.
22. Kuo,G, Choo Q-L, Alter, HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. Science 1989. 244:362-4.
23. 2. Esteban JI, Gonzalez A, Hernandez JM, et al. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. N Engl J Med 1990. 323:1107-12.
24. 3. Miyamura T, Saito I, Katayama T, et al. Detection of antibody against antigen expressed by molecularly cloned hepatitis C virus cDNA: application to diagnosis and blood screening for posttransfusion hepatitis. Proc Natl Acad Sci USA 1990. 87:983-7.
25. 4. Estaban JI, Esteban R, Viladomiu L, et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. Lancet 1989. 2:294-7.
26. 5. Houghton M, Weiner A, Han J, Kuo G, Choo Q-L. Molecular Biology of the Hepatitis C viruses: Implications for diagnosis, Development, and Control of Viral Disease. Hepatology 1991. 14:381-8.
27. 6. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo Q-L, Kuo G. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectivity followed transfusion recipients with acute and chronic non-A,non-B hepatitis. N Engl J Med 1989. 321:1494-1500.

Todos los derechos Reservados – NORDVITAL IPS