

### INDICACIONES DE USO

Para la detección cualitativa de anticuerpos del virus de inmunodeficiencia humana (HIV 1+2) en suero humano y plasma. Agente de diagnóstico in vitro, para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

### RESUMEN Y APLICACIÓN

La evidencia actual indica que el síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) es causado por el VIH - 1 y VIH-2 virus. Los virus se transmiten por contacto sexual, exposición a la sangre (incluyendo intercambio de agujas y jeringas contaminados) de ciertos productos de la sangre o transmitida de una madre infectada a su feto o hijo durante el período prenatal. La presencia de anticuerpos frente a los virus en el suero de un paciente indica infección viral. HIV-1 y HIV - 2 virus han sido aislados de pacientes con SIDA y complejo relacionado con el SIDA - (ARC), las personas de alto riesgo para el SIDA. Virus eliminar celdas HIV 1/2 T, una subpoblación de células T de defensa del cuerpo, causando por lo tanto los pacientes con SIDA susceptibles a las infecciones oportunistas y el desarrollo de tumores malignos. La incidencia de anticuerpos específicos para el HIV 1/2 es alta en el SIDA, ARC y las personas con alto riesgo de SIDA.

### DESCRIPCIÓN

Prueba inmunoenzimática.

Ensayo inmunoenzimático conteniendo placa de microporos recubiertos con anticuerpos específicos, reactivo enzimático conjugado, controles, sustratos, solución de paro y solución de lavado.

Este ensayo se basa en el método sándwich de dos pasos. En la primera etapa, la muestra y recubiertos de antígeno recombinante de microplacas HIV se combinan. Durante la incubación, los anticuerpos del HIV presente en la muestra se unen el antígeno recubierto en los pocillos. Después del lavado, en el segundo paso, se añade conjugado de enzima a los pocillos. Durante la incubación, se permite presente Anti-HIV en la muestra para reaccionar simultáneamente con los dos antígenos, lo que resulta en el anticuerpo HIV esta intercalada entre la fase sólida y antígenos ligados a enzimas. A continuación, un complejo esta, por tanto, generado por la reacción inmunológica entre el antígeno en la fase sólida, el anticuerpo HIV que estaban presentes en la muestra y el antígeno conjugado enzima. Después del lavado, se añaden entonces sustrato A y B sustrato y catalizadas por el complejo. Un color azul se desarrolla, la intensidad de la cual es proporcional a la cantidad de Anti-HIV que estaba presente en la muestra. La reacción enzimática se detuvo mediante la adición de solución de parada, que cambia el color azul a amarillo. La reacción criogénico resultante se mide como absorbancia. La intensidad de color es proporcional a la cantidad del Anti-HIV de la muestra.

MATERIALES PROVISTOS	96 PRUEBAS
Micropozos recubiertos con antígeno HIV1/2	12X8X1
Reactivo enzimático conjugado	7.5 mL
Control negativo	1 mL
Control positivo	1 mL
Solución de paro	7.5 mL
Sustrato A	7.5 mL
Solución de lavado concentrada (20x)	50 mL
Sustrato B	7.5 mL
Instructivo	1 pieza
Bolsa ziplock	1 pieza

### MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROVISTOS

1. Micro pipetas capaces de transportar 5 - 200 µl.
2. Agua desionizada o destilada.
3. Pegamento o cinta adhesiva.
4. Papel absorbente o una toalla de papel.
5. Lavadora automática o semiautomática.
6. Lector de placas de micro Elisa con una capacidad de leer a una longitud de onda de 450nm.
7. Medidor de tiempo.

### ALMACENAMIENTO

Los kits de prueba sin abrir deben almacenarse a una temperatura de entre 2°C a 8°C al recibirla y la microplaca debe mantenerse en una bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición a la humedad del aire.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso solo In Vitro.
2. No utilizar después de la fecha de vencimiento.
3. No utilizar los reactivos de diferentes equipos.
4. Los tubos de ensayo no deben contener ácido, que inhibe la actividad de la peroxidasa.
5. Almacene reactivos 2-8°C. No lo congele.
6. Las tiras de micro pocillos deben mantenerse secos en la bolsa de aluminio resellada con desecante.
7. Deje que las tiras y la bolsa alcancen la temperatura ambiente antes de abrir la bolsa para evitar la condensación de humedad en tiras. Siempre vuelva a sellar la bolsa de aluminio después de su uso.
8. Todos los especímenes, incluidos los controles positivos y negativos deben ser tratados como material infeccioso.
9. No fumar, comer o beber en las zonas donde se realizan las pruebas.
10. No pipeteé con la boca. Las precauciones universales deben ser practicadas. Guantes de PVC y gafas, así como ropa de protección adecuada. Lávese bien las manos después.
11. Infecciones de las muestras y los derrames no ácido que contienen deben limpiarse a fondo con un 5% de hipoclorito de sodio.
12. Todos los materiales de desecho deben desinfectarse adecuadamente antes de su eliminación. Los desechos líquidos y sólidos deben ser esterilizados en autoclave durante al menos 1 hora a 121,5°C.

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

1. Mantener los reactivos a temperatura ambiente y mezclar suavemente.
2. Prepare la solución de lavado (1x) mediante la dilución de 1 parte de la solución de lavado 20 x con 19 partes de agua des ionizada o destilada. Mezclar bien antes de usar.

### RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recoja la sangre por punción venosa.
2. Deje que la sangre se coagule y separar el suero por centrifugación tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Todos los coágulos deben ser eliminados.
3. Suero o plasma pueden ser usados.
4. Si las muestras no pueden ser analizadas inmediatamente, deben refrigerarse a 2-8°C antes de la prueba para reducir al mínimo su deterioro. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben ser congeladas por debajo de -20°C. No se recomienda el almacenamiento en congeladores auto-descongelación.
5. Las muestras congeladas pues, deben descongelarse y mezclarse a fondo antes de su uso.
6. Evite la congelación y descongelación repetida de las muestras.

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número de tiras necesarias en el marco de plástico proporcionado.
1. Dispense 50 µl de cada uno de control negativo, control positivo y muestras de ensayo en los pocillos apropiados.
2. Mueva suavemente los pozos durante 20 segundos, y luego cubrir los pozos con una cinta adhesiva. Incubar los pocillos a 37°C durante 30 minutos. **Nota: Deseche la hoja adhesiva o cinta adhesiva y no volver a utilizarlo para evitar la contaminación.**
3. Deseche el contenido de los pocillos y lave 6 veces con la solución de lavado preparada a concentración 1X. golpee los pocillos contra papel absorbente para remover las gotas de agua residual.

5. Añadir 50 µl de enzima conjugada a cada pocillo.
6. Incubar los pocillos a 37°C durante 30 minutos
7. Deseche el contenido de los pocillos y lave 6 veces con la solución de lavado preparada a concentración 1X. golpee los pocillos contra papel absorbente para remover las gotas de agua residual.
8. Agregue 50 µl de sustrato A y 50 µl de sustrato B a cada pocillo e incúbelo a 37°C por 10 minutos.
9. Añadir 50 µl de solución de paro a cada pocillo y agite suavemente para mezclar bien.
10. Lea la microplaca con una lectura de 450 nm y mida la densidad óptica de cada pocillo. Un filtro de 620 a 690 se puede utilizar como una longitud de onda de referencia para optimizar el resultado.

#### **CÁLCULO DE RESULTADOS**

El valor de corte = 0,100 + absorbancia media del control negativo. Si la absorbancia media del control negativo es menor que 0,05, entonces usar 0,05 para el cálculo del valor de corte.

Calcular la relación de cada muestra dividiendo su valor de absorbancia entre el valor de corte de la siguiente manera:

$$\text{Relación de la muestra} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Valor de Corte}}$$

Interpretaciones	Relación de la muestra
Negativo	< 1.00
Positivo	> 1.00

Un resultado negativo indica la ausencia o la no posibilidad de detectar anticuerpos anti-VIH I/II en la muestra, Un resultado positivo es evidencia presuntiva de la presencia de anticuerpos contra el VIH-1 y / o VIH-2 en la muestra.

#### **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

1. El rendimiento óptimo ensayo requiere estricto cumplimiento al procedimiento de ensayo descrito en esta hoja de instrucciones. Cualquier modificación del procedimiento puede dar lugar a resultados aberrantes.
2. Un resultado positivo en repetidas ocasiones es evidencia presuntiva de la presencia de anticuerpos contra el VIH-1 y / o VIH-2 en la muestra. Las muestras reactivas deben ser confirmadas mediante un ensayo complementario, como la prueba de Western Blot.
3. Un resultado negativo indica la ausencia probable de anticuerpos detectables para el VIH-1 y VIH-2 en la muestra. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o infección por el VIH-1 y / o VIH-2. La prueba puede no haber sido lo suficientemente sensible o la conversión no ha ocurrido en el momento de la prueba.
4. Los resultados falsos positivos se pueden esperar de los procedimientos de ensayo de esta naturaleza. La proporción de positivos que son falsos positivos dependerá de la sensibilidad y especificidad de la prueba, así como en la prevalencia de VIH-1 y anticuerpos contra el VIH-2 en la población de ser supervisados. (En general, la mayor prevalencia de VIH-1 y / o anticuerpos contra el VIH-2 en una población, menor es la proporción de muestras positivas falsas.
5. El sistema ELISA VIH micro pocillos se limita a la determinación de anticuerpos contra el VIH en suero humano, plasma, o plasma recalcificado.  
El resultado obtenido en esta prueba sólo se debe utilizar como un complemento a otros procedimientos de diagnóstico y la información disponible para el médico.