

### INDICACIONES DE USO

Para detección cualitativa de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (HCV) en suero humano o plasma.

Agente de diagnóstico in vitro para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

### RESUMEN Y APLICACIÓN

El Virus de la hepatitis C (HCV) es un pequeño virus envuelto con sentido positivo, monocatenario RNA virus. El HCV se conoce ahora como la mayor causa de transmisión en sangre no-A, no-B. Los anticuerpos contra el HCV son detectables aproximadamente 45 días después de expuestas a HCV, y se encuentran en más del 80% de los pacientes con bien documentado no-A, no B hepatitis. Por lo tanto, la detección de anticuerpos de HCV en el suero o plasma es útil en la determinación de la exposición del HCV y en el diagnóstico de la hepatitis C. La infección crónica es comúnmente asintomática aún en la presencia de daños hepáticos detectables por biopsia. El HCV crónico se caracteriza por niveles fluctuantes de alanina aminotransferasa y cambios reconocibles en la histología del hígado. Una infección crónica puede desencadenar cirrosis o en carcinoma hepatocelular. El kit de ELISA de HCV es la última generación de inmunoensayo enzimático en fase sólida ligado que detecta específicamente los anticuerpos al HCV en suero o plasma humano. La prueba es altamente sensible y específica.

### DESCRIPCIÓN

Prueba inmunoenzimática.

Este ensayo se basa en el método indirecto de dos pasos. En el primer paso, se combinan la muestra y HCV recombinante recubierto micro pocillos. Durante la incubación, el anti HCV presente en la muestra se une al antígeno recubierto en pozos. Después del lavado en el segundo paso, se añade conjugado a la mezcla de enzima de reacción. Durante la incubación en Anti-HCV presente en la muestra reacciona con el ratón anti-IgG humana dentro del conjugado enzimático. Entonces se genera un complejo entre fase sólida, el anti-HCV dentro de la muestra y el ratón Anti-IgG humana en el conjugado enzima por reacciones inmunológicas. Después de un segundo lavado, se añade entonces un sustrato A y B sustrato y catalizadas por este complejo, resultando en una reacción criogénica. La reacción criogénica resultante se mide como absorbancia. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de anti-HCV en la muestra.

MATERIALES SUMINISTRADOS	96 PRUEBAS
Microporos recubiertos con HCV recombinante.	12X6X1
Reactivo enzimático conjugado	11.5 mL
Control negativo	1 mL
Control positivo	1 mL
Diluyente de la muestra	11.5 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 de uso	1
Papel adherente y bolsa zip-lock	2

### MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO SUMINISTRADOS

1. Micropipetas.
2. Cinta Adhesiva.
3. Papel absorbente o una toalla de papel.
4. Lavadora con control de temperatura
5. Lector microplaca con, capacidad de longitud de onda de 450nm.
6. Medidor de tiempo.

### ALMACENAMIENTO

1. Componentes de prueba es estable hasta los datos de caducidad cuando se conserva a una temperatura de entre 2°C y 8°C. No lo congele
2. Devolver todos los reactivos que requieren refrigeración inmediatamente después del uso. Cerrar de nuevo la bolsa de micro pocillos inmediatamente después de retirar el número deseado de pozos. Mantenga el desecante en la bolsa en todo momento durante el almacenamiento.
3. No mezclar o utilizar los componentes de los kits con diferentes números de lote. No utilizar los reactivos después de su fecha de caducidad.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

El kit de prueba no contiene agentes infecciosos viables. Sin embargo todas las muestras de los pacientes deben ser considerados como potencialmente muy infecciosa.

1. No ingerir los reactivos. Evitar el contacto con ojos, piel y mucosas.
2. Usar ropa protectora y guantes desechables. No permita fumar o comer mientras se manipulen materiales que contienen antígenos.
3. Impedir cualquier pipetear con la boca.
4. Maneje todas las muestras de los pacientes y los componentes de la prueba como si fueran capaces de transmitir infecciones. Limpie los derrames a fondo con un adecuado nivel intermedio a desinfectante de alto nivel. Descontaminar y disponer las muestras y todos los materiales potencialmente contaminados como si contiene agentes infecciosos.
5. Evite salpicar reactivos sustrato o la solución de parada con la piel o las membranas mucosas otros. En caso de contacto, lave con abundante agua.

### RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y MANIPULACIÓN

1. Este kit está diseñado para uso con el suero o plasma sin aditivos. Las muestras de sangre entera deben ser separadas en las células rojas de la sangre o suero tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis.
2. Las muestras deben ser refrigeradas a una temperatura de 2°C-8°C antes de la prueba para minimizar el deterioro. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben ser congeladas por debajo de 20°C. El almacenamiento en congeladores de descongelación auto no es recomendable.
3. Especímenes Congelados deben descongelarse completamente y se mezclan antes de su uso.
4. Evite repetir congelación y descongelación de las muestras.
5. Las muestras que contengan precipitados pueden dar resultados inconsistentes. Aclarar esos especímenes por centrifugación antes del ensayo.
6. No utilizar muestras de suero que demuestren bruto lipemia, hemolisis o turbidez. No utilice muestras que contienen acida de sodio.

### PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Prepare la solución de lavado (1x) diluyendo 1 volumen del buffer de lavado 20X con 19 volúmenes de agua destilada. Mezclar bien antes de usar.
2. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18-25°C) y mezclar invirtiendo suavemente o girando antes de su uso. No provocar la formación de espuma.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número de pocillos que se necesiten en el marco de plástico proporcionado.
2. Deje el pozo A1 para el blanco. Dispense 100 µl de cada uno de los controles positivos y negativos en los pocillos seleccionados.
3. Dispense 100 µl de diluyente de muestras en los pocillos seleccionados para cada muestra. Dispense 10 µl de cada muestra en los pocillos correspondientes y mezcle.
4. Cubra la parte superior de los pocillos con una hoja adhesiva o una cinta adhesiva e incube la placa a 37°C durante 30 minutos  
**Nota:** Para evitar la contaminación, deseche la hoja adhesiva o cinta adhesiva y no los re-use para evitar la contaminación.
5. Al final del periodo de incubación, retire la placa del baño de agua y deseche la solución de reacción. Lavar los pocillos 6 veces con la solución de lavado (1x).
6. Seque la placa boca abajo sobre una almohadilla absorbente o toallas de papel para eliminar todas las gotas de agua residual.
7. Añada 100 µl de enzima conjugada en cada pocillo excepto el pocillo blanco.
8. Cubra la parte superior de los pocillos con un adhesivo o una cinta adhesiva, incube a 37°C durante 30 minutos.
9. Al final del periodo de incubación, deseche la solución. Lave la placa 6 veces con la solución de lavado (1x).
10. Dispense 50 µl de sustrato A y 50 µl de sustrato B en cada pocillo. Mezclar suavemente durante 5 segundos.
11. Incube a 37°C en la oscuridad durante 10 minutos.
12. Añada 50 µl de solución de paro a cada pocillo, incluyendo el blanco. Mezcle suavemente durante 30 segundos. Es importante asegurarse de que todos los pocillos cambiaron completamente de color azul a amarillo.
13. Lea el valor de la absorbancia de cada pocillo utilizando un lector de microplacas a una longitud de onda de 450 nm.

## INTERPRETACIÓN

### A. Establecer el valor de corte

El valor de corte =  $0.1 + N$

N: significa OD del control negativo. Usa 0.05 para el cálculo si el valor de N es menos de 0.05

### B. Cálculo de la tasa de la OD de la muestra

Calcule la tasa de la OD de cada muestra dividiendo el valor OD entre el valor de corte de la siguiente manera:

$$\text{Tasa de la OD de la muestra} = \frac{\text{OD de la muestra}}{\text{Valor de corte}}$$

### C. Interpretaciones

Tasa de la OD de la muestra	
Negativo	<1.00
Positivo	>1.00

1. El resultado negativo indica que no se existen anticuerpos HCV detectables en la muestra.
2. La muestra con un resultado positivo se debe probar de nuevo con Western blot u otros procedimientos.

## CONTROL DE CALIDAD

1. El valor medio de la DO de los controles positivos - el valor medio de la OD de los controles negativos debe ser mayor de 0.300. De lo contrario, la prueba debe considerarse inválida. Por favor, consulte el procedimiento y repita la prueba.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad general	98%
Especificidad general	97%

## LIMITACIONES

1. El kit de Elisa HCV se limita a la detección de anticuerpos de HCV en suero humano, plasma.
2. La prueba es un ensayo de screening cualitativo y no es para determinar la concentración cuantitativa de anticuerpos contra el virus HCV.
3. Un resultado negativo no descarta la infección por HCV debido a que los anticuerpos frente a HCV pueden estar ausentes en el momento de la toma de muestra o no puede estar presente en calidad suficiente para ser detectado en la etapa temprana de la infección.
4. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico un diagnóstico clínico definitivo no debe basarse en los resultados de una sola prueba, pero sólo debe ser realizada por el médico después de evaluar todos los datos clínicos y de laboratorio.

## REFERENCIAS

1. Coo, Q. I.; G. Kuo, A. J. Weiner, L. R. Overby, D. W. Bradley, and M. Houghton. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science 1989; 244:359.
2. Kuo, G., Q. L. Choo, H. J. Alter, and M. Houghton. An assay for circulating antibodies to a major etiologic Virus of Human non-A, non-B hepatitis. Science 1989; 244:362
3. Van de poel, C. L., H. T. M. Cuypers, H. W. <Reesink, and P. N. Lelic. Confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. Lancet 1991; 337:317.
4. Wilber, J. C: development and use of laboratory test for hepatitis C infection: a review. J. Clin. Immunoassay 1993; 16:204.