



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Vitarte, 15 de Abril del 2021

**VISTO:**

El Expediente 20MP-10009-00 que contiene el Informe Nº 341-2020-ALAB/HV, el Informe Nº 095-2021-ALAB/HV, el Informe Nº 035-2021-UPE/AORG Nº 015/HV y la Nota Informativa Nº 159-2021-AAL-HV;

**CONSIDERANDO:**

Que, el Título Preliminar de la Ley Nº 26842, Ley General de Salud, establece que, la salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo. La protección de la salud es de interés público. Por tanto, es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla;

Que, mediante Resolución Ministerial Nº 850-2016/MINSA se aprueba las "Normas de Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud", entre sus objetivos específicos señala: que brinda a las instancias reguladoras del Ministerio de Salud una herramienta que facilite el desarrollo de sus funciones normativas; así como, estandarizar los elementos conceptuales, estructurales y metodológicos más relevantes en el ciclo de producción normativa, asimismo, establecer la aplicación de procesos transparentes y explícitos para la emisión de los documentos normativos;

Que, en ese contexto, mediante Informe Nº 095-2021-ALAB/HV, la Jefatura del Área de Laboratorio remite a la Unidad de Planeamiento Estratégico, el **Manual Operativo Estandarizado de Inmunología**, para su revisión y posterior aprobación por el ente correspondiente;

Que, en mérito a ello, mediante Informe Nº 035-2021-UPE/AORG Nº 015/HV con de fecha 03 de marzo del 2021, la Jefatura de la Unidad de Planeamiento Estratégico sostiene que, el **Manual Operativo Estandarizado de Inmunología**, se encuentra dentro del alcance de la Resolución Nº 850-2016/MINSA, que aprueba el documento denominado "Normas para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud", y su aprobación permitirá alcanzar la estandarización de los procedimientos relacionados a la S;

Que, en tal sentido, el artículo 11º del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Vitarte, aprobado por Resolución Ministerial Nº 596-2004/MINSA, establece las atribuciones y responsabilidades del Director, entre las cuales se encuentran, la de expedir actos resolutivos en asuntos que sean de su competencia;

Que, con la finalidad de estandarizar los procedimientos relacionados a la sección de Hematología contribuyendo a mejorar la calidad de los resultados obtenidos en la sección de Hematología y con propósito de lograr los objetivos institucionales, resulta pertinente aprobar el **Manual Operativo Estandarizado de Inmunología**;

Con la visación del Servicio de Apoyo al Diagnóstico, la Unidad de Planeamiento Estratégico y el Área de Asesoría Legal del Hospital Vitarte.





De conformidad con lo dispuesto en la Ley N° 26842, la Resolución Ministerial N° 850-2016/MINSA se aprueba las "Normas de Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud" y el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Vitarte, aprobado por Resolución Ministerial N° 596-2004/MINSA, y demás normas pertinentes.

**SE RESUELVE:**

**ARTÍCULO 1º.- APROBAR** el **Manual Operativo Estandarizado de Inmunología**, por las consideraciones expuestas en la parte considerativa, cuyo documento adjunto, forma parte integrante de la presente resolución.



**ARTÍCULO 2º.- ENCARGAR** al Área de Laboratorio del Servicio de Apoyo al Diagnóstico, realice la ejecución de las acciones correspondientes para la difusión, implementación, aplicación y supervisión del mencionado Manual.

**ARTÍCULO 3º.- DISPONER** al Responsable del Portal de Transparencia y Acceso a la Información Pública, la publicación de la presente Resolución en el portal institucional de la página web.

**REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y CÚMPLASE**



MINISTERIO DE SALUD  
HOSPITAL VITARTE  
Dra. ROSA REGUIARRA BILCHES  
C.M.P. 02378 R.N.E. 31437  
Directora (a)

Distribución:

- ( ) Dirección.
- ( ) Servicio de Apoyo al Diagnóstico.
- ( ) Área de Laboratorio.
- ( ) Interesados.
- ( ) Archivo.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA



2021



Documento para uso exclusivo del Área de Laboratorio del Hospital Vitarte. Se prohíbe su reproducción total o parcial sin la autorización del Área del Hospital Vitarte. Se considera copia no controlada a toda copia impresa que no lleve el sello de COPIA CONTROLADA.

# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

## ÍNDICE

	Pág.
<b>I. FINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN TÉCNICA</b>	3
<b>II. ÁMBITO DE APLICACIÓN</b>	3
<b>III. BASE LEGAL</b>	3
<b>IV. DISPOSICIONES GENERALES</b>	4
4.1 DEFINICIONES	4
<b>V. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS – CONTENIDO</b>	4
5.1 IDENTIFICACIÓN DE LA SOLICITUD DE ANÁLISIS DE LABORATORIO, RECEPCION, TOMA DE MUESTRA DEL PACIENTE Y TRANSPORTE	4
5.2 CENTRIFUGACIÓN DE LA MUESTRA	5
5.3 EXÁMENES INMUNOLÓGICAS	5
5.3.1 MICROALBUMINURIA	5
5.3.2 ANTIGENOS FEBRILES	8
5.3.3 ANTIESTREPTOLISINA O (ASO) LATEX	10
5.3.4 FACTOR REUMATOIDEO (FR) LATEX	11
5.3.5 HELICOBACTER PYLORI AB COMBO RAPID TEST	13
5.3.6 HEPATITIS B PRUEBA RAPIDA	17
5.3.7 HIV PRUEBA RAPIDA	20
5.3.8 PROTEINA C REACTIVA (PCR)	23
5.3.9 PROTEINA C REACTIVA ULTRA SENSIBLE (PCR-hs)	25
5.3.10 RPR CARBON	28
5.3.11 SUB-UNIDAD BETA PRUEBA RAPIDA	30
<b>VI. RESPONSABILIDAD</b>	34
<b>VII. ANEXOS</b>	35
7.1 CUADRO RESUMEN DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	35
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b>	37



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

## I. FINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN TÉCNICA

La finalidad del manual es alcanzar la estandarización en los procedimientos relacionados a la Sub área de Inmunología contribuyendo a un mejor manejo del sistema de gestión de calidad y control de calidad analítico.

Brindar información de los procedimientos realizados en la Sub área de Inmunología, estandarizar los procedimientos en la realización de cada examen inmunológico del Área de laboratorio Clínico del Hospital Vitarte.

Controlar y Disminuir los errores en la fase analítica. Crear consciencia y compromiso del personal de laboratorio para lograr un trabajo de excelencia y en conjunto dar pasos hacia la mejora continua.

La Sub Área de Inmunología del Hospital Vitarte realiza un gran número de análisis inmunológicos que son importantes para ayudar al diagnóstico del paciente como pruebas rápidas serológicas de HIV, Hepatitis B, RPR, así mismo pruebas de evaluación al sistema inmunológico como Proteína C Reactiva, Factor Reumatoideo, Antiestreptolisina O, y pruebas de diagnóstico de embarazo, entre otras.

Este Manual está a disposición de todo el personal de laboratorio que se desempeña en la sub Área de Inmunología, su uso se espera contribuir a mejorar la calidad de los resultados obtenidos en la Sub área de Inmunología.

## II. ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente manual está dirigido a todo el personal que labora en el Área de Laboratorio del "Hospital Vitarte", para su aplicación en cada área correspondiente a la labor desempeñada.

## III. BASE LEGAL

- Ley N° 26842, Ley General de Salud.
- Ley N° 77783 Ley de Bases de Descentralización.
- D.S. N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimiento de Salud y Servicios Médicos de Apoyo.
- Resolución Ministerial N° 526-2011/ MINSa aprueba las "Normas para la elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud".
- R.M. N° 414-2015/MINSa que aprueba el documento técnico metodología para la elaboración de guías de práctica clínica.
- RM N° 850-2016-MINSa "Normas para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud".
- Instituto Nacional de Salud de procedimientos de laboratorio para la obtención y envío de muestras (I). Serie de Normas Técnicas N°15. Primera Edición: 1995.
- Instituto Nacional de salud. Manual de procedimientos "Bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos". Serie de Normas Técnicas N°18. Tercera Edición: 2005.
- Instituto Nacional de Salud – Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias. Serie de Normas técnicas N°28 – Primera Edición – 2001.



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

## IV. DISPOSICIONES GENERALES

### 4.1 DEFINICIONES

- **Hiperfiltración temprana:** Es un complejo fenómeno hemodinámico que se inicia en la diabetes temprana con el incremento de microalbuminuria y la evolución de una nefropatía diabética.

- **Albumina:** Proteína que es componente principal del plasma sanguíneo.

- **Micro albuminuria:** La **microalbuminuria** se refiere a valores de 30 a 300 mg/24 h, 20–200 µg/min, 30–300 µg/mg o 30-300 mg/g (todos valores equivalentes, pero en diferentes unidades) de una proteína conocida como albúmina en una muestra de orina.

- **Turbidimetría:** son métodos analíticos basados en la dispersión de partículas suspendidas en líquidos, es la medición de la luz transmitida a través de una suspensión, tiene la ventaja de permitir la valorización cuantitativa, sin separar el producto de la solución.

- **Antígenos febriles:** Las reacciones **febriles** son un conjunto de pruebas que sirven como su nombre lo indica para diagnosticar enfermedades que cursan con fiebre, como Fiebre tifoidea (Salmonella), Brucelosis (fiebre ondulante, fiebre de Malta).

- **Seroaglutinación:** método de laboratorio basado en el enfrentamiento de los anticuerpos dirigidos contra los antígenos de superficie de algunas partículas, y que da lugar a la formación de aglomerados visibles a simple vista.

- **Anti-estreptolisina O:** Anticuerpo humano sintetizado como respuesta a la presencia del antígeno estreptolisina O producido por bacterias estreptococos del grupo A. Su abreviatura es ASLO.

- **Dispepsia no ulcerosa:** La **dispepsia** funcional es un cuadro multifactorial, recurrente, a veces crónico, caracterizado por un conjunto de signos y síntomas que producen malestar abdominal superior, y en el cual no se encuentran alteraciones orgánicas, como tampoco se observan alteraciones en los estudios bioquímicos,

- **Inmunoensayos cromatográficos:** La **inmunocromatografía** se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítopes del antígeno a detectar y un reactivo de detección.

- **Anticuerpos heterófilos:** Anticuerpos inducidos en especies diferentes de la que se origina el antígeno. Estos anticuerpos están dirigidos contra una gran variedad de antígenos específicos inter-especies, los más conocidos son los Forssman, Hanganutziu-Deicher (H-D), y Paul-Bunnell (P-B).

## V. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS – CONTENIDO

### 5.1 IDENTIFICACION DE LA SOLICITUD DE ANALISIS DE LABORATORIO, RECEPCION, TOMA DE MUESTRA DEL PACIENTE Y TRANSPORTE



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

5.1.1 Recoger las muestras de la Sub área de toma de muestra, con sus respectivas solicitudes de análisis o fichas de fraccionamiento cada 40 a 50 minutos.

5.1.2 Verificar los datos de la Solicitud de Análisis de Laboratorio con la muestra y contrastar los datos del paciente como: nombre completo, edad, sexo, diagnóstico presuntivo, consultorio o área, N° de Historia Clínica, fecha y hora de la toma de muestra y alguna observación que se considere oportuna realizar.

5.1.3 Enumerar la solicitud de análisis y la muestra según código y número correlativo empezando del número 1 en cada día de proceso.

CÓDIGO	Nº CORRELATIVO
C: Certificado medico	01
A: Inmunología manual	01
H: Pruebas Hormonas	01
Pruebas Rápidas	01

5.1.4 Verificar la condición de la muestra, teniendo en cuenta lo establecido en el Manual de Estándares Pre analíticos para realizar los test indicados. En caso contrario rechazar la muestra y registrar en el cuadro de indicadores y cuaderno de incidencias en la toma de muestra.

### 5.2 CENTRIFUGACION DE LA MUESTRA

5.2.1 Las muestras aceptadas y enumeradas se espera que se retraiga el coagulo de 15 a 20 minutos aproximadamente después a su extracción y luego son centrifugadas de acuerdo al siguiente cuadro informativo

TIPO DE TUBO	CENTRIFUGACION
Tubo sin anticoagulante	4000 x 5 min

5.2.2 Mantener las muestras centrifugadas en gradillas en forma vertical y tapadas hasta el procesamiento.

### 5.3 EXAMENES INMUNOLÓGICOS

#### 5.3.1 MICROALBUMINURIA

##### 5.3.1.1 CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Los valores de concentración de albúmina en orina permiten reflejar cambios en la permeabilidad glomerular que se producen en diversas enfermedades renales.

La nefropatía diabética se caracteriza por una hiperfiltración temprana que genera pequeños aumentos en la excreción de albúmina urinaria. Por este motivo, la medición



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

de albúmina en orina se considera un importante indicador clínico del deterioro de la función renal en individuos diabéticos.

La excreción de albúmina en orina también se monitoriza en pacientes hipertensos para identificar el desarrollo de una nefropatía significativa.

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.

### 5.3.1.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La albúmina presente en la muestra de orina provoca la aglutinación de las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-albúmina humana. La aglutinación de las partículas de látex es proporcional a la concentración de albúmina y puede ser cuantificada por Turbidimetría.

### 5.3.1.3 COMPOSICIÓN

A. Reactivo. 1 x 16 mL. Tampón borato 0,1 mol/L, azida sódica 0,95 g/L, pH 10,0.

B. Reactivo. 1 x 4 mL. Suspensión de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos antialbúmina humana, azida sódica, 0,95 g/L.

S. Patrón de Albúmina. 1 x 1 mL. Albúmina humana. La concentración de albúmina viene indicada en la etiqueta del vial.

El suero humano utilizado en la preparación del patrón era negativo para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, el patrón debe tratarse con precaución como potencialmente infeccioso.

### 5.3.1.4 CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos y el Patrón 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:

– Reactivos: absorbancia del blanco superior al límite indicado en “Parámetros del ensayo”.

– Patrón: Presencia de humedad.

### 5.3.1.5 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Vaciar el contenido de un vial de Reactivo B en un frasco de Reactivo A (Nota 1). Homogeneizar. Estable 15 días a 2-8°C.

Si desea preparar volúmenes menores, mezclar en la proporción: 1 mL de Reactivo B + 4 mL de Reactivo A. Agitar el látex antes de pipetear.

Patrón de Albumina (S): Reconstituir el liofilizado con 1,00 mL de agua destilada. Estable 1 mes a 2-8°C.

### 5.3.1.6 MUESTRAS



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

Orina recogida mediante procedimientos estándar. La muestra de orina debe centrifugarse antes de realizar el ensayo.

La albúmina en orina es estable 7 días a 2-8°C.

### 5.3.1.7 VALORES DE REFERENCIA

Orina, adultos: Hasta 15 mg/L.

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### 5.3.1.8 CALIBRACIÓN

Se recomienda utilizar el Patrón de albúmina.

Se recomienda calibrar al menos cada 2 meses, después de un cambio de lote de reactivo o cuando lo requieran los procedimientos de control de calidad.

El valor de concentración del Patrón de Albúmina es trazable al Material de Referencia Certificado BCR 470 (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).

### 5.3.1.9 CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de la Orina Control (cod. 18036 y 18037) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

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.

### 5.3.1.10 CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Los datos siguientes se obtuvieron usando un analizador A25. Los resultados son similares a los del A15. Los detalles sobre los datos de evaluación están disponibles bajo solicitud.

– Límite de detección: 0,4 mg/L

– Límite de linealidad: 130 mg/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/3 con agua destilada y repetir la medición.

– Veracidad: Los resultados obtenidos con este procedimiento no mostraron diferencias sistemáticas cuando se compararon con un procedimiento de referencia. Los detalles de los experimentos de comparación están disponibles bajo solicitud.

– Fenómeno de zona: Se obtienen resultados falsamente bajos en muestras con una concentración de albúmina superior a 500 mg/L.

– Interferencias: la bilirrubina (20 mg/dL) no interfiere. La hemólisis (hemoglobina 1 g/L) interfiere. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

## 5.3.2 ANTIGENOS FEBRILES

### 5.3.2.1 PRINCIPIO

Los Antígenos Febriles son suspensiones bacterianas especialmente preparadas para realizar la seroaglutinación en láminas portaobjetos, con el fin de detectar la presencia de aglutininas relacionadas con Brucellosis y Salmonellosis.

### 5.3.2.2 REACTIVOS

S. Typhi H (Ag. Flagelar, d-H)	5 ml
S. Typhi O (Ag. Somatic, 9, 12-O)	5 ml
S. Paratyphi A H (Ag. Flagelar, a-H)	5 ml
S. Paratyphi B H (Ag. Flagelar, b-H)	5 ml
Brucella Abortus	5 ml
Brucella Melitensis	5 ml
Proteus Ox 19	5 ml

### 5.3.2.3 CONTROLES

Control Positivo Salmonella	1 ml
Control Positivo Brucella	1 ml
Control Positivo Proteus	1 ml
Control Negativo	1 ml

### 5.3.2.4 MATERIAL ADICIONAL NO SUMINISTRADO

- Porta o placas de vidrio para la reacción de aglutinación.
- Palillos desechables.
- Tips
- Pipetas de volumen variable.
- Disolución salina (NaCl 0,9%)

### 5.3.2.5 CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Los reactivos mantenidos a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No congelar.

### 5.3.2.6 MUESTRA

Suero. Puede conservarse a 2-8°C durante una semana.

### 5.3.2.7 AGLUTINACION EN PORTA. DETERMINACION RAPIDA. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS:

#### Técnica

1. Llevas los reactivos, muestras séricas y controles a temperatura ambiente.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

2. Homogeneizar la suspensión bacteriana con suavidad, incluso el volumen contenido en la pipeta del cuentagotas.
3. Dispensar 20ul de suero y controles en los círculos de reacción. Añadir a cada uno, una gota de la correspondiente solución bacteriana.
4. Mezclar con la ayuda de un agitador desechable, balancear por espacio de 1 minuto y observar la presencia o ausencia de aglutinación.

### Resultados

POSITIVO: Aglutinación. Equivale aproximadamente a un título de 1:80 de la prueba de aglutinación en tubo.

NEGATIVO: No aglutinación. Título inferiores a 1:80

### 5.3.2.8 AGLUTINACION EN PORTA. DETERMINACION SEMICUANTITATIVA

#### Técnica

1. Llevar los reactivos, muestras séricas y controles temperatura ambiente.
2. Homogeneizar la suspensión bacteriana con suavidad, incluso el volumen contenido en la pipeta del cuentagotas.
3. Dispensar 80,40, 50, 10 y 5 ul de suero en cada uno de los círculos de reacción. Añadir a cada uno una gota de la suspensión bacteriana.
4. Mezclar con ayuda de un agitador desechable, balancear con suavidad por espacio de 1 min. Y observar la presencia o ausencia de aglutinación.

#### Resultados

Los volúmenes de suero usados corresponden aproximadamente a títulos 1:20, 1:40, 1:80 y 1:320 en la prueba de aglutinación en tubo.

POSITIVO: Aglutinación.

NEGATIVO: No Aglutinación.

### 5.3.2.9 INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Son probablemente significativos los títulos iguales o superiores a 1:80. El diagnóstico preciso de la enfermedad depende de la evaluación de los datos clínicos junto con los resultados analíticos.

El título aumenta considerablemente entre la fase aguda y la convalecencia.

### 5.3.2.10 INTERFERENCIAS

No se detectan interferencias por FR hasta concentraciones de 300 UI/ml. La presencia de hemoglobina ( $\leq 20$  mg/dl) no interfiere en el test.

Restos de detergente en el material pueden ocasionar reacciones falsamente positivas. También el empleo de una dilución salina vieja o contaminada.



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

## 5.3.3 ANTI-ESTREPTOLISINA O (ASO) LATEX

### 5.3.3.1 CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La anti-estreptolisina O es el conjunto de anticuerpos específicos frente a la estreptolisina O, una enzima extracelular producido por estreptococos del grupo A de Lancefield b-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 escarlata.

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.

### 5.3.3.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La anti-estreptolisina O (ASO) sérica provoca una aglutinación de las partículas de látex recubiertas con estreptolisina O. La aglutinación de las partículas de látex es proporcional a la concentración de ASO y puede ser cuantificada por Turbidimetría.

### 5.3.3.3 CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos y el Patrón 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:

- Reactivos: Absorbancia del blanco superior al límite indicado en "Parámetros del ensayo".
- Patrón: Presencia de humedad.

### 5.3.3.4 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Vaciar el contenido de un vial de Reactivo B en un frasco de Reactivo A (Nota 1). Homogeneizar. Estable 20 días a 2-8°C.

Si se desea preparar volúmenes menores, mezclar en la proporción: 1 mL de Reactivo B + 4 mL de Reactivo A. Agitar el Reactivo B antes de pipetear.

Patrón de ASO (S): Reconstituir el liofilizado con 1,00 mL de agua destilada. Estable 1 mes a 2-8°C.

### 5.3.3.5 MUESTRAS

Suero recogido mediante procedimientos estándar.

La anti-estreptolisina O en suero es estable 7 días a 2-8°C.

### 5.3.3.6 VALORES DE REFERENCIA



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

Suero: Adultos: < 200 UI/mL

Niños: < 150 UI/mL

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

### 5.3.3.7 CALIBRACIÓN

Se recomienda utilizar el Patrón de ASO.

Se recomienda calibrar al menos cada 2 meses, después de un cambio de lote de reactivo o cuando lo requieran los procedimientos de control de calidad.

El valor de concentración del Patrón de ASO es trazable al Material de Referencia Biológico 94/572 (Organización Mundial de la Salud).

### 5.3.3.8 CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Reumático niveles I (cod. 31213) y II (cod. 31214) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

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.

– Fenómeno de zona: se obtienen resultados falsamente bajos en muestras con una concentración de ASO superior a 4000 UI/mL.

– Interferencias: la lipemia (triglicéridos 10 g/L), la hemólisis (hemoglobina 10 g/L), la bilirrubina (20 mg/dL) y el factor reumatoide (2200 UI/mL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.

### 5.3.4 FACTORES REUMATOIDEOS (FR) LATEX.

#### 5.3.4.1 CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Los factores reumatoideos (FR) son un grupo de anticuerpos tipo IgM (aunque también se ha descrito la presencia de IgG e IgA) que reaccionan contra el fragmento Fc de las moléculas IgG.

Los FR aparecen principalmente en el suero de pacientes con artritis reumatoide pero también otras enfermedades pueden producir FR: procesos inflamatorios crónicos, enfermedades infecciosas como endocarditis bacteriana subaguda, malaria, sífilis, lepra, leishmaniasis, tuberculosis y variedad de enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico.

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.

#### 5.3.4.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los factores reumatoideos (FR) séricos provocan una aglutinación de las partículas de látex recubiertas con gamma-globulina humana. La aglutinación de las partículas de látex es proporcional a la concentración de FR y puede ser cuantificada por Turbidimetría.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

### 5.3.4.3 COMPOSICIÓN

A. Reactivo: 1 x 40 mL. Tampón Tris 20 mmol/L, azida sódica 0,95 g/L, pH 8,2.

B. Reactivo: 1 x 10 mL. Suspensión de partículas de látex sensibilizadas con gamma-globulina humana, azida sódica 0,95 g/L.

S. Patrón de FR. 1 x 3 mL. Suero humano. La concentración de factores reumatoideos viene indicada en la etiqueta del vial.

El suero humano utilizado en la preparación del patrón era negativo para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, el patrón debe tratarse con precaución como potencialmente infeccioso.

### 5.3.4.4 CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos y el Patrón 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:

– Reactivos: Absorbancia del blanco superior al límite indicado en “Parámetros del ensayo”.

– Patrón: Presencia de humedad.

### 5.3.4.5 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Los Reactivos (A), (B) están listos para su uso. (Nota 1).

Patrón de FR (S): Reconstituir el liofilizado con 3,0 mL de agua destilada. Estable 1 mes a 2-8°C

Curva de Calibración: Preparar diluciones del Patrón de FR empleando solución salina 9 g/L como diluyente. Multiplicar la concentración del Patrón de FR por el factor correspondiente indicado en la tabla, para obtener la concentración de FR de las diluciones.

Dilución	1	2	3	4	5
Patrón de FR (ul)	30	60	120	180	240
Sol. Salina (ul)	210	180	120	60	3/4
Factor	0.125	0.25	0.5	0.75	1.0

### 5.3.4.6 MUESTRAS

Suero recogido mediante procedimientos estándar.

FR en suero es estable 7 días a 2-8°C.

### 5.3.4.7 VALORES DE REFERENCIA

Suero, adultos<sup>4</sup>: Hasta 30 UI/mL

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

## 5.3.4.8 CALIBRACIÓN

Se recomienda utilizar el Patrón de FR.

Se recomienda calibrar al menos cada 2 meses, después de un cambio de lote de reactivo o cuando lo requieran los procedimientos de control de calidad.

El valor de concentración del Patrón de FR es trazable al Material de Referencia de la OMS W1066 (International Laboratory for Biological Standards, Amsterdam).

## 5.3.4.9 CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Reumático niveles I (cod. 31213) y II (cod. 31214) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

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.

## 5.3.4.10 CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Los datos siguientes se obtuvieron usando un analizador A25. Los resultados son similares a los del A15. Los detalles sobre los datos de evaluación están disponibles bajo solicitud.

- Límite de detección: 6,9 UI/mL
- Intervalo de medida: (valor aproximado dependiendo de la concentración del calibrador más elevado): 6,9-160 UI/mL. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/5 con agua destilada y repetir la medición.
- Veracidad: Los resultados obtenidos con este procedimiento no mostraron diferencias sistemáticas cuando se compararon con un procedimiento de referencia. Los detalles de los experimentos de comparación están disponibles bajo solicitud.
- Fenómeno de zona: La técnica no presenta fenómeno de zona hasta 800 UI/mL.
- Interferencias: la lipemia (triglicéridos 10 g/L), la hemólisis (hemoglobina 10 g/L) y la bilirrubina (20 mg/dL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.

## 5.3.5 HELICOBACTER PYLORI AB COMBO RAPID TEST

### 5.3.5.1 FUNDAMENTO

El Helicobacter Pylori está asociado con una variedad de enfermedades gastrointestinales que incluye la dispepsia no ulcerosa, ulcera duodenal y gástrica y gastritis crónica. La prevalencia de la infección por H. pylori podría excederse al 90% en pacientes con síntomas y signos de enfermedades gastrointestinales. Recientes estudios indican una asociación de la infección por H. pylori con el cáncer de estómago. El H. Pylori colonizado en el sistema gastrointestinal provoca respuestas de anticuerpos específicos, lo cual ayuda en el diagnóstico de la infección con H. Pylori y en el seguimiento de la prognosis del tratamiento de las enfermedades relacionadas con H.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

Pylori. Los antibióticos en combinación con el compuesto de bismuto habrían mostrado su efectividad en el tratamiento de la infección activa por H. Pylori. El éxito en la erradicación del H. pylori se asocia con una mejoría clínica en pacientes con enfermedades gastrointestinales proporcionando una evidencia adicional.

La Prueba Rápida On Site H. Pylori Combo Ab, es la última generación de inmunoensayos cromatográficos, el cual utiliza antígenos recombinantes para detectar los anticuerpos frente a la infección por H. Pylori en suero humano o plasma. La prueba es fácil de usar, y es altamente sensible específica.

### 5.3.5.2 PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La Prueba Rápida OnSite H. Pylori Ab Combo, es un inmunoensayo cromatográficos de flujo lateral basado en el principio de la técnica del sándwich de antígeno doble. Los casetes de ensayo constan de: 1) una almohadilla conjugada de color borgoña que contiene antígenos H. Pylori incluido ag-A conjugado con oro coloidal (conjugados H. Pylori) y conjugados de conejo de oro IgG; 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una banda de prueba (banda T) y una banda de control (banda C). la banda T está pre-recubierta con antígenos H. Pylori no conjugados, y la banda C que está pre-recubierta con cabra anti conejo IgG.

Cuando el volumen adecuado de la muestra es suministrado en el pocillo de ensayos del casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Los anticuerpos: ya sean IgG, IgM, o IgA, frente a H. Pylori si están presentes en la muestra se unirán con los conjugados H. Pylori. El inmunocomplejo es luego capturado en la membrana de los antígenos H. Pylori previamente recubiertos, formando una banda T de color borgoña, la cual indica un resultado H. Pylori Ab Positivo.

La usencia de la banda T sugiere un resultado negativo. La prueba consiste en un control interno (banda C) la cual deberá exhibir una banda de color borgoña del inmunocomplejo de cabra anti conejo IgG / **conjugado de conejo de oro IgG** independientemente de la presencia de cualquiera de los anticuerpos contra H. Pylori. De lo contrario, el resultado de la prueba es inválido y la muestra tendrá que volver analizarse con otro dispositivo.

### 5.3.5.3 REACTIVOS Y MATERIALES REQUERIDOS

1. Cada kit contiene 30 dispositivos de prueba, cada una es sellada en bolsa de aluminio con tres productos dentro:
  - a. Un dispositivo de cassette.
  - b. Un gotero plástico
  - c. Un desecante.
2. Diluyente de muestra (1botella, 5ml).
3. Un inserto (instrucciones de uso).

### 5.3.5.4 MATERIALES PROSIBLEMENTE REQUERIDOS NO INCLUIDOS

1. Control Positivo.
2. Control Negativo



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

## 5.3.5.5 MATERIALES REQUERIDOS NO INCLUIDOS

1. Reloj.
2. Dispositivo de lanceta para la prueba de sangre total.

## 5.3.5.6 MANEJO DE RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosa y manéjelos usando procedimientos de bioseguridad estándar.

### Plasma

1. Recolectar la sangre dentro de un tubo de recolección de tapa de color lavanda, azul o verde (que contienen EDTA, citrato o heparina, respectivamente) a través de una venopunción.
2. Separar el plasma de centrifugación.
3. Con mucho cuidado, separar el plasma de un tubo nuevo previamente etiquetado.

### Suero

1. Recolectar la muestra de sangre en un tubo de recolección de tapa color rojo (que contiene no anticoagulantes) por venopunción.
2. Permitir que la sangre se coagule.
3. Separar el suero por centrifugación.
4. Con cuidado, retirar el suero en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Analizar las muestras tan pronto como sean recolectadas. Almacenarlas si no han sido analizadas inmediatamente a 2°C-8°C.

Almacenar las muestras a 2°C-8°C hasta por 5 días. Las muestras deberán congelarse a -20°C para un largo periodo de almacenamiento.

Evitar los múltiples ciclos de congelación-descongelación. Antes del ensayo, llevar las muestras congeladas a temperatura ambiente y mezclar suavemente. Las muestras que contengan partículas visibles deberán de clarificarse por centrifugación antes del ensayo. No usar muestras que presenten lipemia, hemólisis o turbidez a fin de evitar interferencias en la interpretación de resultados.

### Sangre

Las gotas de sangre entera pueden obtenerse ya sea por la punción en la yema de los dedos. No use sangre hemolizada para la prueba.

Las muestras de sangre entera deben mantenerse en refrigeración (2°C-8°C) si no han sido analizadas inmediatamente. Las muestras de analizarse dentro de las 24 horas a su recolección.

## 5.3.5.7 PROCEDIMIENTOS DEL ENSAYO

1. Llevar la muestra y los componentes de la prueba a temperatura ambiente si están congelados o refrigerados. Mezclar bien la muestra antes del ensayo una vez descongelada.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

2. Cuando se analice la prueba, abrir la bolsa y retirar el dispositivo. Colocar el dispositivo en una superficie limpia y plana.
3. Asegúrese de etiquetar el dispositivo con el número de identificación del número.

### 4. Para pruebas en Sangre Total

Aplicar 1gota de sangre total (aproximadamente 40 a 50 ul) dentro del pocillo de muestra.

Luego añadir 1 gota (cerca de 35- 50 ul) de Diluyente de Muestra.

### Para la prueba de suero o plasma

Llenar el gotero pipeta con la muestra.

Sujetando el gotero verticalmente, suministre 1 gota (aprox.30-45 ul) de muestra en el pocillo de muestra asegurándose de que no haya burbujas de aire.

Luego añada 1 gota (aprox.35.50 ul) de Diluyente de Muestra inmediatamente controlar el tiempo.

5. Los resultados pueden ser leídos en 15 minutos. Resultados positivos pueden ser visibles en un corto 1 minuto.

No lea los resultados después de 15 minutos. Para evitar confusión, deseche el dispositivo de prueba después de la interpretación del resultado.

### 5.3.5.8 INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO

Los resultados esperados son así:

#### 1. **Resultado Negativo**

Si solo la banda C han desarrollado el color, la prueba indica no hay anticuerpos detectables contra H. Pylori presentes en la muestra. El resultado es negativo.

#### 2. **Resultado Positivo**

Si ambas bandas C y T han desarrollado color, la prueba indica la presencia de anticuerpos contra H. Pylori en la muestra. El resultado es positivo.

Las muestras con resultados positivos deberán confirmarse con los métodos de pruebas alternativas y conclusiones clínicas antes de hacer una determinación positiva.

3. **Invalido:** Si la banda C no ha desarrollado color, el ensayo es inválido independientemente del color que se desarrolle en la banda T como se indica a continuación repetir el ensayo con un nuevo dispositivo.

### 5.3.5.9 LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El procedimiento del ensayo y la interpretación de Resultado del Ensayo deberá seguirse de cerca cuando se analice la presencia de anticuerpos con H. Pylori en suero, plasma o sangre entera de pacientes individuales, su incumplimiento podría generar resultados inexactos.

2. La Prueba Rápida On Site H. Pylori Ab, se limita a la detección cualitativa de los anticuerpos IgG, IgM, e IgA contra H. Pylori en suero humano, plasma o sangre entera. La intensidad de la banda de la prueba no tiene correlación lineal con el título del anticuerpo en la muestra.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

3. Un resultado negativo de un paciente individual indica la ausencia de anticuerpos detectados contra H. Pylori. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición a la infección con H. Pylori.
4. Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos contra H. Pylori presentes en la muestra es inferior a los límites de detección del ensayo o los anticuerpos que son detectados no están presentes durante la etapa de enfermedad donde la muestra es recolectada.
5. Algunas muestras contienen un título inusualmente alto de anticuerpos heterófilos o factores reumatoides que pueden afectar los resultados esperados.
6. Los resultados obtenidos con esta prueba deberán de ser interpretados en conjunto con otros procedimientos de diagnósticos y conclusiones clínicas.

### 5.3.6 HEPATITIS B

#### HBsAg Combo Rapid Test

##### 5.3.6.1 RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El Virus de la Hepatitis B (VHB) es un virus ADN hepatotrópico. El centro de este virus contiene ADN polimerasa, el antígeno centro (HBcAg) y el antígeno e (HBeAg). El centro del VHB está encerrado en una capa que contiene lípidos, carbohidratos y proteínas incluyendo un antígeno en la superficie (HBsAg).

El HBsAg es el primer marcador que aparece en la 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.

El test es un Inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba del casete consiste en:

1. Una membrana con un conjugado coloreado de borgoña que contiene anticuerpos anti-HBsAg conjugados con oro coloidal (conjugado HBsAg Ab) y un control de anticuerpo conjugado con oro coloidal.
2. Una membrana de nitrocelulosa que contiene la línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La línea T esta pre recubierta con otro anticuerpos anti-HBsAg, y la línea C esta pre-recubierta con un control de anticuerpo.

Cuando se dispensa un volumen adecuado de la muestra en el casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. El HBsAg si está presente en la muestra se une con el 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 control interno (línea C) la cual muestra una coloración borgoña por la formación de un 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.

##### 5.3.6.2 MATERIALES PROVISTOS



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

- Bolsas de aluminio selladas: Un dispositivo de casete, un gotero de plástico, un desecante.
- Diluyente de muestra.
- Inserto (instrucciones de uso).

### 5.3.6.3 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Los kits de prueba deben ser almacenados a 2—30°C en el empaque sellado y bajo condiciones en seco. Si se almacena de 2 a 8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleve 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 a más de 30°C.

### 5.3.6.4 COLECCIÓN DE MUESTRAS

#### Sangre Entera:

1. Coleccione especímenes de sangre entera siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio clínico.
2. Los tubos capilares Heparinizados pueden ser usados para colectar muestras de sangre entera, o también con EDTA, Citrato. No use muestras de sangre hemolizada.
3. Los especímenes de sangre entera deben ser utilizados inmediatamente después de su colección, puede almacenarse de 2 a 8°C si no se va a procesar inmediatamente. Las muestras deben ser procesadas antes de cumplir 24 horas de su recolección.

#### Suero o plasma:

1. Colecte especímenes de suero o plasma siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio clínico.
2. No use muestras lipémicas, hemolizadas o turbias porque pueden generar interferencias en los resultados.
3. Procesar las pruebas lo más pronto posible a la toma de muestra. En caso de suero, espere la formación del coágulo, antes de separar el suero por centrifugación.
4. Almacenamiento: Un espécimen debe ser almacenado de 2 a 8°C si no es procesado el mismo día de su recolección, son estables durante 5 días. Las muestras se pueden congelar a -20°C para almacenamientos prolongados. Evitar 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.

### 5.3.6.5 PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

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

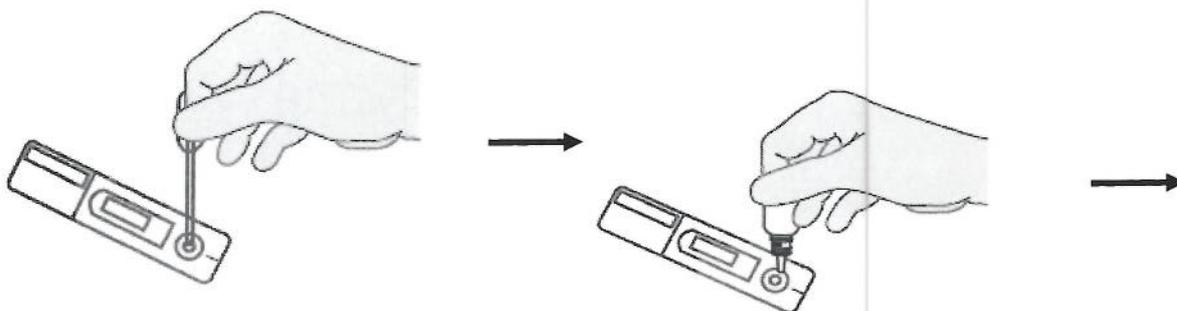


## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

4. Llene el gotero con la muestra.

Con el gotero en posición vertical, dispense 1 gota (40 a 50 ul) de suero/plasma o 1 gota (45 a 55 ul) de sangre total en el pozo de muestra (pozo S) asegurándose de que no haya burbujas.

Inmediatamente agregue 1 gota (aprox. 30 – 40 ul) de Diluyente de muestra en el pozo de muestra (pozo S) con la botella en posición vertical.



1 gota de suero o plasma.

1 gota de Diluyente de muestra.

15 minutos  
Resultado.



5. Contabilice el tiempo.

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. (contenedor de bolsa roja).

Nota: Un resultado positivo puede salir hasta más rápido en una concentración alta. Sin embargo, entre más baja la concentración de HBsAg, mayor tiempo tomará para



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

mostrar la línea de prueba: Así, un resultado negativo puede ser determinado en 15 minutos para asegurar que es verdaderamente negativo en lugar de un positivo débil.

### Nivel HBsAg Tiempo para la lectura del resultado

> 5ng/ml	5-10 min.
1ng/ml.	15 min.
Negativo	15 min.

### 5.3.6.6 LEYENDO LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA

- 1. Positivo:** Una línea de prueba roja púrpura aparece en la región de prueba, indicando un resultado positivo. Entre más baja se la concentración, la banda de la prueba será más débil.
- 2. Negativo:** La ausencia de una línea de prueba roja purpura en la región de prueba indica un resultado negativo.
- 3. Inválido:** debe haber siempre una línea de control roja purpura en la región de prueba de control sin tener en cuenta el resultado de la prueba. Si la banda de control no se ve, la prueba es considerada no valida. Repita la prueba usando un nuevo dispositivo de prueba.

### 5.3.7 HIV

#### ONE STEP HIV (1&2) TEST CARD

##### 5.3.7.1 RESUMEN

El virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH 1&2) es el agente causal del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). El método general de detección de la infección con el VIH es determinado por la presencia de anticuerpos al virus mediante el método EIA, seguido por la confirmación con Western Blot. La prueba rápida Advanced Quality One Step Anti-HIV (1&2) Test Card es una prueba sencilla y cualitativa visual que detecta anticuerpos totales en la sangre total, suero o plasma humano. La prueba se basa en un principio inmunocromatográfico y puede dar un resultado dentro de 1 a 15 minutos.

##### 5.3.7.2 PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo comienza con una muestra aplicada al pocillo de la muestra. Un antígeno recombinante VIH conjugado con oro coloidal integrado en el cojín reacciona con los anticuerpos del VIH presentes en la muestra de sangre total, suero o plasma formando un complejo conjugado/anticuerpos VIH. A medida que la mezcla se desplaza a lo largo de la tira de prueba, conjugado/anticuerpos VIH complejo es capturado por el antígeno recombinante VIH inmovilizado en la membrana formando una banda de color en la región de la prueba "T" selectivamente para HIV-1(T1) y HIV-2 (T2). Una muestra



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

negativa no produce una banda debido a la ausencia del complejo conjugado de oro coloidal/anticuerpos del VIH. Los antígenos utilizados en la prueba son proteínas recombinantes fijadas y libres conjugadas que corresponden a regiones altamente inmunoreactivas del VIH-1 y VIH-2. Una banda de color aparece en la región Control al final "C" es el resultado del conjugado de oro coloidal unido al anticuerpo anti-VIH inmovilizado en la membrana. La banda de color indica que el Conjugado-oro coloidal está funcionando.

Existen dos líneas en las membranas, es la **región T1** se inmovilizan los recombinantes **gp41, p24 y gp120**. La mayoría de muestras infectadas con VIH-1 y VIH-2 dan resultados positivos en la región T1. En la **región T2** se encuentran recombinantes **gp36**, el cual es VIH 2 específicamente, y aparece un resultado positivo en la región T2 indicando que las muestras del VIH-2 son positivas. La prueba ADVANCED QUALITY™ One Step Anti-VIH (1&2) Test Card es un ensayo inmunocromatográfico (rápido) para la detección cualitativa de anticuerpos totales de todos los isotipos (IgG, IgM, IgA) específicos para el VIH-1 incluyendo el subtipo "O" y el VIH-2 al mismo tiempo en sangre total, suero o plasma humano. El HIV subtipo "O" es detectado mediante nuestra prueba en la región T1.

### 5.3.7.3 REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS

- Tarjetas/Tiras de Prueba en empaque metalizado con un gotero calibrado de polipropileno descartable y pared desecante.
- Diluyente de muestra.
- Inserto o manual de uso.

### 5.3.7.4 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El equipo debe almacenarse a 2-30°C

### 5.3.7.5 COLECCIÓN DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

#### Sangre Entera

1. Colecte los especímenes siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio clínico.
2. Tubos Capilares Heparinizados deben ser usados para colectar muestras de sangre entera. No use muestras de sangre hemolizada.
3. Especímenes de sangre entera deben ser usados inmediatamente después de su colección.

#### Suero o Plasma

1. Colecte especímenes de suero o plasma siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio clínico.
2. Almacenamiento: Un espécimen debe ser refrigerado si no es usado el mismo día de su colección. Los especímenes deben ser congelados si no se usan en tres días a partir de su colección. Evite congelar y descongelar los especímenes más de 2 o 3 veces antes de usarlos. 0.1% de ácido de sodio puede ser agregado al espécimen como preservativo sin afectar los resultados del ensayo.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

### 5.3.7.6 PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

No abra el empaque hasta que esté listo para examinar la muestra.

#### Para tarjetas de prueba:

1. Tenga todos los reactivos y especímenes en temperatura ambiente.
2. Remueva la tarjeta de prueba del empaque metalizado y colóquela en una superficie limpia y seca.
3. Identifique la tarjeta de prueba por cada espécimen o control.
4. Agregue 30ul (1gota) del espécimen o control en el depósito para muestra de la tarjeta, usando el gotero. Después agregue 50ul (1gota) de diluyente para muestra.
5. Interprete los resultados experimentales en 15 minutos.

#### Para tiras de prueba:

1. Tenga todos los reactivos y especímenes en temperatura ambiente.
2. Remueva la tarjeta de prueba del empaque metalizado y colóquela en una superficie limpia y seca.
3. Identifique la tarjeta de prueba por cada espécimen o control en la almohadilla que está debajo de las tres flechas, en la parte baja de la tirilla de prueba.
4. Agregue 30ul (1gota) del espécimen o control en la almohadilla que está debajo de las tres flechas, en la parte baja de la tirilla de prueba.
5. Interprete los resultados experimentales en 15 minutos.

**Precaución: Use una pipeta limpia para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.**

6. Un resultado positivo puede ser interpretado antes, de cualquier manera, lea cualquier negativo en 15 minutos para asegurar que la muestra es negativa y no una baja concentración de anticuerpo anti-VIH 1&2.

**No interprete los resultados después de 20 minutos.**

Es recomendado ensayar un control positivo y control negativo conocido en cada desempeño para asegurar el procedimiento del ensayo.

#### Notas:

1. Los resultados positivos podrán aparecer tan pronto como 1 minuto para una muestra con niveles altos de anticuerpos HIV.
2. No interprete el resultado después de 20 minutos.

### 5.3.7.7 LEYENDO LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA

**1. Positivo:** Ambas líneas de prueba y la línea de control aparecen marcadas de color rojo púrpura en la membrana. Entre más baja sea la concentración del anticuerpo, la línea de la prueba será más débil.

**2. Negativo:** Sólo la línea de control aparece marcada de color rojo púrpura en la membrana. La ausencia de una línea indica un resultado negativo.

**3. Inválido:** debe haber siempre una línea de control roja purpura en la región de control sin tener en cuenta el resultado de la prueba. Si la línea de control no se ve, la prueba es considerada no valida. Repita la prueba usando un nuevo dispositivo de prueba.

**Nota:** En normal tener una banda de control ligeramente alumbrada con muestras positivas muy fuertes con tal de que sea distintamente visible.



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

## 5.3.7.8 LIMITACIONES

1. Sólo las muestras no hemolizadas, no ictericas y que tiene buena fluidez pueden ser usadas en esta prueba.
2. No agite la muestra. Inserte una pipeta bajo de la superficie de la muestra para coleccionar el espécimen.

## 5.3.8 PROTEINA C-REACTIVA (PCR)

LATEX

### 5.3.8.1 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 específico.

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.

### 5.3.8.2 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 turbidimetría.

### 5.3.8.3 COMPOSICIÓN

- A. Reactivo. 2 x 16 mL. Tampón glicina 0,1 mol/L, azida sódica 0,95 g/L, pH 8,6.  
B. Reactivo. 2 x 4 mL. Suspensión de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos anti- PCR humana, azida sódica 0,95 g/L.

- S. Patrón de PCR. 1 x 1 mL. Suero humano. La concentración de proteína C-reactiva viene indicada en la etiqueta del vial.

El suero humano utilizado en la preparación del patrón era negativo para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, el patrón debe tratarse con precaución como potencialmente infeccioso.

### 5.3.8.4 CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos y el Patrón son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Absorbancia del blanco superior al límite indicado en "Parámetros del ensayo".
- Patrón: Presencia de humedad.

### 5.3.8.5 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Vaciar el contenido de un vial de Reactivo B en un frasco de Reactivo A (Nota 1). Homogeneizar. Estable 20 días a 2-8°C.

Si se desea preparar volúmenes menores, mezclar en la proporción: 1 mL de Reactivo B + 4 mL de Reactivo A. Agitar el Reactivo B antes de pipetear.

Patrón de PCR (S): Reconstituir el liofilizado con 1,0 mL de agua destilada. Estable 1 mes a 2-8°C.

### 5.3.8.6 MUESTRAS

Suero recogido mediante procedimientos estándar.

La proteína C-reactiva es estable 7 días a 2-8°C.

### 5.3.8.7 VALORES DE REFERENCIA

Suero, adultos: Hasta 5 mg/L.

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### 5.3.8.8 CALIBRACIÓN

Se recomienda utilizar el Patrón de PCR.

Se recomienda calibrar al menos cada 2 meses, después de un cambio de lote de reactivo o cuando lo requieran los procedimientos de control de calidad.

El valor de concentración del Patrón de PCR es trazable al Material de Referencia Certificado BCR 470 (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).

### 5.3.8.9 CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Reumático niveles I (cod. 31213) y II (cod. 31214) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

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.

### 5.3.8.10 CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Los datos siguientes se obtuvieron usando un analizador A25. Los resultados son similares a los del A15. Los detalles sobre los datos de evaluación están disponibles bajo solicitud.

- Límite de detección: 1,20 mg/L



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

- Límite de linealidad: 150 mg/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/5 con agua destilada y repetir la medición.
- Veracidad: Los resultados obtenidos con este procedimiento no mostraron diferencias sistemáticas cuando se compararon con un procedimiento de referencia. Los detalles de los experimentos de comparación están disponibles bajo solicitud.
- Fenómeno de zona: La técnica no presenta fenómeno de zona a concentraciones < 250 mg/L.
- Interferencias: la lipemia (triglicéridos 10 g/L), la hemólisis (hemoglobina 10 g/L), la bilirrubina (20 mg/dL) y el factor reumatoide (200 UI/mL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.

### 5.3.9 PROTEÍNA C-REACTIVA (PCR-hs) ULTRASENSIBLE

#### ALTA SENSIBILIDAD

#### 5.3.9.1 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 suero 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 específico.

Aunque la PCR tradicionalmente se ha utilizado para monitorizar o detectar procesos inflamatorios agudos, en diferentes estudios se ha puesto de manifiesto elevaciones de su concentración dentro del intervalo de referencia convencional. En estos estudios se ha demostrado la utilidad de la PCR de alta sensibilidad (PCRhs) como factor independiente en la predicción del riesgo en enfermedades cardiacas y vasculares.

Concentraciones mayores de 10 mg/L, generalmente ponen de manifiesto la existencia de otro tipo de proceso inflamatorio.

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.

#### 5.3.9.2 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 turbidimetría.

#### 5.3.9.3 CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

- Reactivo. 1 x 16 mL. Tampón glicina 0,1 mol/L, azida sódica 0,95 g/L, pH 8,6.
- Reactivo. 1 x 4 mL. Suspensión de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos anti-PCR humana, azida sódica 0,95 g/L.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

S. Patrón de PCR-hs. Para 1 x 5 mL. Suero humano. La concentración de proteína C-reactiva viene indicada en la etiqueta del vial.

El suero humano utilizado en la preparación del patrón era negativo para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, el patrón debe tratarse con precaución como potencialmente infeccioso.

### 5.3.9.4 CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos y el Patrón 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:

- Reactivos: Absorbancia del blanco superior al límite indicado en "Parámetros del ensayo".
- Patrón: Presencia de humedad.

### 5.3.9.5 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Vaciar el contenido de un vial de Reactivo B en un frasco de Reactivo A (Nota 1).

Homogeneizar. Estable 20 días a 2-8°C.

Si se desea preparar volúmenes menores, mezclar en la proporción: 1 mL de Reactivo B + 4 mL de Reactivo A.

Agitar el Reactivo B antes de pipetear.

Patrón de PCR-hs (S): Reconstituir el liofilizado con 5,0 mL de agua destilada. Estable 1 mes a 2-8°C.

Curva de Calibración: Preparar diluciones del Patrón de PCR-hs empleando solución salina 9 g/L como diluyente. Multiplicar la concentración del Patrón de PCR-hs por el factor correspondiente indicado en la tabla, para obtener la concentración de PCR-hs de las diluciones.

Dilución	1	2	3	4	5
Patrón de PCR-hs (ul)	30	60	120	180	240
Sol. Salina (ul)	210	180	120	60	3/4
Factor	0.125	0.25	0.5	0.75	1.0

### 5.3.9.6 MUESTRAS

Suero recogido mediante procedimientos estándar.

La proteína C-reactiva es estable 7 días a 2-8°C.

### 5.3.9.7 VALORES DE REFERENCIA

Suero:

Edad	Hombres	Edad	Mujeres
5-13 años	<1.45 mg/L	5-18 años	<1.90 mg/L,
14-18 años	<2.13 mg/L.	19-49 años	<3.33 mg/L.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

19-39 años	<2.68 mg/L.	50-64 años	<8.50 mg/L.
40-49 años	<4.80 mg/L-	65-99 años	<6.60 mg/L.
50-64 años	<7.90 mg/L.		
65-99 años	<6.80 mg/L,		

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### 5.3.9.8 CALIBRACIÓN

Se recomienda utilizar el Patrón de PCR-hs.

Se recomienda calibrar al menos cada 2 meses, después de un cambio de lote de reactivo o cuando lo requieran los procedimientos de control de calidad.

El valor de concentración del Patrón de PCR-hs es trazable al Material de Referencia Certificado BCR 470 (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).

### 5.3.9.9 CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control de Proteínas niveles I (Cod. 31211) y II (Cod. 31212) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

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.

### 5.3.9.10 CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Los datos siguientes se obtuvieron usando un analizador A25. Los resultados son similares a los del A15. Los detalles sobre los datos de evaluación están disponibles bajo solicitud.

- Límite de detección: 0,15 mg/L
- Intervalo de medida: 0,15-15 mg/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/5 con agua destilada y repetir la medición.
- Repetibilidad (intraserie):

Concentración media CV n  
2,52 mg/L 1,9 % 20  
4,85 mg/L 1,3 % 20

- Reproducibilidad (interserie):

Concentración media CV n  
2,52 mg/L 2,6 % 25  
4,85 mg/L 2 % 25

- Veracidad: Los resultados obtenidos con este procedimiento no mostraron diferencias sistemáticas cuando se compararon con un procedimiento de referencia. Los detalles de los experimentos de comparación están disponibles bajo solicitud.
- Fenómeno de zona: La técnica no presenta fenómeno de zona a concentraciones < 500 mg/L.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

- Interferencias: la lipemia (triglicéridos 10 g/L), la hemólisis (hemoglobina 10 g/L) no interfieren. La bilirrubina (>10 mg/dL) y el factor reumatoide (>75 UI/mL) pueden interferir. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.

### 5.3.10 RPR-Carbón

Determinación de reagentes plasmáticos  
PRUEBA EN PORTA Y MICROPLACA

#### 5.3.10.1 FUNDAMENTO

El antígeno RPR-carbón es un preparado no treponémico especialmente diseñado para la detección y semi-cuantificación por coagulación macroscópica en porta o microplaca de reagentes plasmáticos, un grupo de anticuerpos dirigidos contra componentes titulares producidos por los pacientes infectados por *T. pallidum*.

La determinación rápida de las reagentes plasmáticas se efectúa ensayando el antígeno -una asociación de lípidos complejos y carbón- frente a las muestras problema. La presencia o ausencia de una aglutinación visible es indicativa de la presencia o ausencia de reagentes luéticas en las muestras ensayadas.

#### 5.3.10.2 MUESTRAS

Suero o plasma claro, reciente, sin activar.

Una vez separado, el suero puede guardarse a 2°C-8°C durante 48 horas antes del ensayo, o hasta meses a -20°C. Los plasmas ensayarán dentro de las 48 siguientes a su obtención.

#### 5.3.10.3 EQUIPO ADICIONAL

- Pipetas de volumen variable.
- Solución salina (NaCl 0,9%, para técnica semi-cuantitativa)
- Agitados mecánico rotatorio de velocidad regulable a 100 r.p.m. que circunscriba un círculo de unos 2 cm. de diámetro en el plano horizontal.
- Cronómetro.

#### 5.3.10.4 TECNICA

##### I. Prueba Cualitativa

1. Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente
2. Mediante una pipeta automática depositar 50ul de cada muestra en un círculo distinto de la tarjeta visualizadora. Emplear una punta nueva para cada muestra y desecharla tras su empleo. En dos círculos adicionales, depositar 1 gota de cada uno de los sueros control.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

3. Agitar el vial dispensador del antígeno y manteniéndolo en posición vertical, presionar ligeramente hasta asegurarse que la aguja está libre de aire y que la gota obtenida es correcta.
4. Con el vial dispensador invertido, situar la aguja en posición vertical perpendicular a la tarjeta visualizadora. Oprimir suavemente el vial dispensador, dosificando 1 gota de antígeno en casa círculo, próximo a la muestra que debe ensayarse.
5. Efectuar la mezcla con ayuda de un palillo desechable, extendiéndola de forma que cubra por complejo la superficie interior de cada anillo. Emplear palillos distintos para cada mezcla.
6. Depositar la tarjeta en el agitador rotatorio horizontal, previamente ajustado a 10 r.p.m., durante **8 minutos**.
7. Observa con la ayuda de una lámpara de alta intensidad o frente a la luz diurna fuerte, la aparición de cualquier signo de aglutinación dentro del minuto siguiente a la retirada de la tarjeta del agitador.

### Lectura

Reacción negativa: Las partículas de carbón permanecen en suspensión homogénea, sin presencia visible de agregados, tal como se presenta en el control negativo.

Reacción positiva: Un resultado positivo se manifiesta por una agregación de las partículas de carbón, que puede variar entre una ligera pero claramente definida agregación y una marcada e intensa.

### II. Prueba Cuantitativa

1. Para cada muestra a analizar se utilizan 5 círculos de una tarjeta pipeteando 50ul de solución salina (0,9%) en cada uno de ellos.
2. Pipetear sobre el diluyente del primer círculo 50ul de muestra, y empleando la misma punta, mezclar mediante aspiraciones y expulsiones petetidas, transfiriendo 50ul de la mezcla resultante sobre el diluyente del segundo círculo.
3. Continuar con la serie de dobles diluciones hasta el quinto círculo, desechando los 50ul provenientes del mismo, las diluciones finales obtenidas serán: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32.
4. Ensayar cada una de las diluciones tal como se describe en los pasos 3-7 de la prueba cualitativa.

### 5. 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 caso de resultar reactiva la dilución más alta ensayada, repetir el ensayo comenzando con una dilución preliminar al 1:16. Como diluyente de esta nueva serie de dobles diluciones se empleará Control negativo diluido al 1:50 con solución salina, en ver de la solución salina empleada anteriormente.

### III. Prueba Cualitativa en micro placa (fondo plano)

1. Mediante una pipeta automática depositar 50ul de cada muestra en un pocillo distinto de la microplaca. Emplear una punta nueva para cada muestra y desecharla tras su empleo. En dos pocillos adicionales, depositar 1 gota de cada uno de los sueros de control.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

2. Dosificar 1 gota de antígeno en cada pocillo de la microplaca que contienen las muestras a ensayar.
3. Depositar la tarjeta en el agitador rotatorio horizontal, previamente ajustado a  $200 \pm 50$  r.p.m. , durante **20 minutos**.
4. Observar con la ayuda de una lámpara de alta intensidad, sobre una superficie blanca, la aparición de cualquier signo de aglutinación dentro del minuto siguiente a la retirada de la microplaca agitador.

### Lectura

Como en la prueba cualitativa.

### 5.3.10.5 SIGNIFICADO CLÍNICO

La sífilis es una enfermedad causada por la infección con la bacteria *Treponema pallidum* y que puede ser transmitida congénitamente o por contacto sexual, ensayos no treponémicos, como la prueba del RPR, permiten un rápido muestreo de poblaciones y el inmediato tratamiento de pacientes con signos de positividad.

En el diagnóstico clínico, los resultados de la determinación realizada con el reactivo de RPR- carbón deben ser considerados siempre en relación a los hallazgos clínicos y otras pruebas de laboratorio.

### 5.3.10.6 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Pueden aparecer falsos negativos en sífilis primaria temprana y en sífilis tardía, o también debido a fenómenos de prozona. Un resultado negativo en un paciente con sospecha de padecer sífilis, debería re-ensayarse con una técnica cuantitativa con el fin de descartar el efecto prozona.
- Se han descrito con antígenos cardiolipínicos falsas positividades en enfermedades tales como la mononucleosis infecciosa, lupus eritematoso y neumonía viral. El embarazo, la adicción a narcóticos y las enfermedades autoinmunes pueden asimismo dar reacciones positivas falsas.
- No utilizar con líquido cefalorraquídeo.

### 5.3.11 SUB-UNIDAD BETA (HCG)

La gonadotropina corionica humana (HCG) es producida por el tejido trofoblastico y aparece alrededor de 8 y 9 días después de la ovulación cuando haya ocurrido la fertilización. O alrededor de los 4 días después de la concepción. En un ciclo de 28 días con ovulación en el día 14 se puede detectar la HCG en la orina o suero en cantidades menores alrededor de 23 días, o 5 días antes de la esperada menstruación. Su función incluye la facilitación de la implantación, así como el mantenimiento y el desarrollo del cuerpo lúteo. La concentración de la hormona se duplica aproximadamente cada 2 días y aumenta entre 7 a 12 semanas después del primer día del último periodo de menstruación con una concentración media de 50,000 mul/ml. Se han reportado concentraciones de un valor alto 100,000 mul/ml en embarazos normales durante el periodo trimestral en sujetos normales. La HCG en orina proporciona una indicación temprano del embarazo dado que los niveles elevados del HCG también se asocian con la enfermedad troblastica y ciertas neoplasias nontrophoblastic. Se debe eliminar la posibilidad de tener estas enfermedades antes de realizar un diagnostico de embarazo



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

(1) (2).

La prueba rápida On Site HCG combo Rapid Test está diseñado para cumplir todos los requisitos en la obtención de resultados cualitativos rápidos y fáciles de leer, con el propósito de detectar un embarazo prematuro mediante el ensayo de HCG, una Hormona placentaria que puede estar presente en la orina.

## 5.3.11.1 PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba rápida On Site HCG Combo Rápido Test es un inmunoensayo cromatografico de flujo lateral. El casete de la prueba contiene:

- 1) Una almohadilla de conjugado de color vino tinto el cual contiene conjugado de anticuerpo monoclonal anti-HCG con oro coloidal (conjugados HCG Ab).
- 2) Una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una banda de prueba (Banda T) y una banda de control (Banda C). La banda T se encuentra pre-recubierta con otro anticuerpo anti-HCG. y la banda C se encuentra Pre-recubierta con anticuerpo de cabra anti-igG de ratón.

Cuando un volumen adecuado de muestra de ensayo se vierte en la almohadilla de la tiras de prueba, la prueba migra por acción capilar a través de la tira si hay presentación de HCG en la muestra de un nivel igual o superior a 10 mul/ml este se une a los conjugados HCG AB. Inmunocomplejo es capturado en la membrana por Anti – HCG AB pre-Recubierto. Formando una banda T de color Vino tinto indicando un resultado positivo de la prueba para HCG.

La ausencia de la Banda T sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (Banda C) que debe EXHIB una Banda de color Borgoña del inmunocomplejo de cabra anti-igG de ratón / igG de ratón conjugado de Oro independientemente del desarrollo de color en la Banda T. de lo contrario el resultado de la prueba no es válida y la muestra debe ser analizada de nueva con otro dispositivo.

## 5.3.11.2 REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

Paquetes de la caja	1. Bolsa de aluminio individualmente sellados que contienen:	a. Un dispositivo de tira para prueba
		b. Un desecante
	2. Un inserto (instrucciones de uso)	
Paquetes de tubos	1. Dispositivos de tira	
	2. Un descante	
	3. Un inserto (instrucciones de uso)	

## 5.3.11.3 MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO SE SUMINISTRAN

1. Reloj o cronometro
2. Un contenedor para recolección de muestra de orina

## 5.3.11.4 RECOLECCION DE LA MUESTRA Y MANIPULACION

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



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

### ORINA.

La orina de la mañana por lo general contiene la mayor concentración de HCG y por lo tanto es la mejor muestra cuando se realiza la prueba de orina. Sin embargo. Se pueden utilizar las muestras de orina recogidas al azar. Recolecta la muestra de orina en un vaso limpio de plástico o un recipiente recubierto de cera.

Si el análisis no se realiza inmediatamente después de la recolección de la muestra, pero se piensa ejecutar en las 48 horas posteriores a su recolección, la muestra debe ser refrigerada a una temperatura de 2°C a 8°C).

### SUERO.

1. Recolecte la muestra de sangre en un tubo con tapa roja (el cual no contiene anticoagulantes) mediante punción venosa.
2. Permite que la sangre se coagule.
3. Separe el suero mediante centrifugación
4. Extraiga con cuidado el suero en un tubo nuevo etiquetado previamente.

Analice las muestras tan pronto como sea posible luego de su recolección. Almacénalas a una temperatura de 2°C a 8°C de no ser usadas inmediatamente. Almacene las muestras a una temperatura de 2°C a 8°C hasta por 5 días. Las pruebas deben ser congeladas a una temperatura de -20 °C para almacenamientos más prolongados.

### 5.3.11.5 PROCEDIMIENTO

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

Paso 2. Recolecte de 150 a 200 uL o de 3 a 4 gotas de orina en un contenedor de muestras.

Paso 3. Para el empaque del tubo:

- La primera vez que se utiliza un nuevo tubo, anote la fecha en que se abre junto con la fecha de vencimiento presente en la etiqueta.
- Cuando esté listo para usar, saque la cantidad necesaria de tiras de tubo.
- Inmediatamente cierre el tubo para evitar su contaminación y su humedad.

Las tiras de pruebas en el tubo deben ser utilizadas dentro de los 30 días siguientes a la fecha de su apertura por primera vez. La exposición repetida a la humedad extrema puede reducir el tiempo de conservación después de la primera apertura del paquete.

Para el paquete Kit caja:

- Tome la cantidad deseada de bolsas selladas de la caja.
- Cuando esté listo para probar, abra la bolsa por la muesca y extraiga la tira reactiva

Paso 4. Sumergir la tira de la muestra por lo menos 10 segundos.

No permita que espécimen sobrepase el nivel indicado pos las flechas en la tira De la tira. Por su parte, creo el temporizador.

Paso 5. Retire la tira de la muestra, y coloque en un lugar con una superficie plana y



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

seca.

Paso 6. Los resultados pueden leerse en el transcurso de 5 a 10 minutos. Los resultados positivos son visibles en un tiempo de 1 minuto.

No se recomienda realizar la lectura luego de 10 minutos. Para evitar confusiones, deseche el dispositivo de prueba después de interpretar su resultado.

### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. RESULTADO NEGATIVO: Si solo aparece la banda C, la prueba indica que no hay HCG detectable presente en la muestra. En este caso el resultado es negativo o no reactivo.
2. RESULTADO POSITIVO: Si además de presentarse una línea en la banda C, se genera la banda T, la prueba indica la presencia de HCG en la muestra. En este caso el resultado es positivo.
3. RESULTADO INVALIDO: 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. El análisis se debe repetir con un nuevo dispositivo.

### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Si la muestra de orina está demasiado diluida, no pueden contener niveles representativos de HCG. Si se sospecha de embarazo, se debe obtener una primera orina en la mañana y repetir la prueba. La concentración de HCG de menos de 10mUL/mL será detectada como negativo.
2. Un grupo de estados de enfermedad, además de embarazo, tales como enfermedad trofoblástica, teratomas proteinuria, hematuria, coriocarcinoma ovárico y testicular pueden causar niveles elevados de HCG. Este diagnóstico debe ser considerado con evidencia clínica.
3. Como con se realiza en todas las pruebas de diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de un solo ensayo, sin embargo, solo debe ser realizada por el médico después de que todos los datos clínicos y de laboratorio hayan sido evaluados.
4. Las sustancias inmunológicamente interferentes tales como las utilizadas en tratamientos de terapia de anticuerpos pueden invalidar este ensayo.
5. Las muestras que contienen niveles muy altos de HCG  $\geq 600,000$  mUI/ml pueden producir una banda de prueba con intensidad de color más claro que la esperada. Cuando se sospecha de "efecto gancho" de alta dosis, se recomienda repetir la prueba con una dilución de 1:10 de la muestra con Di H2O.
6. No deben usarse muestras hemolizadas o lipémicas ya que pueden presentar resultados inferiores o erráticos.
7. El embarazo ectópico no puede distinguirse del embarazo normal al realizar únicamente mediciones de HCG.
8. Se deben detectar muestras de pacientes que reciban quimioterapia antes de empezar el ensayo.
9. Los niveles positivos de HCG pueden ser detectables durante varias semanas después del parto o el aborto.



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

10. Las muestras con resultado positivo durante los primeros días después de la concepción pueden tomarse negativas debido a la culminación natural del embarazo.

### VI. RESPONSABILIDADES

El Jefe del Área de Laboratorio es responsable de revisar y aprobar el Manual Operativo estandarizado del área de Inmunología.

El Responsable de Calidad elabora y verifica el cumplimiento de los procedimientos con las diversas actividades de control de calidad en el laboratorio.

El Responsable de calidad recolectara la información de los diversos procesos y realizara el informe mensual de calidad.

El Responsable del área de proceso:

Realizar el mantenimiento diario de los equipos a su cargo.

Realizar el Control de calidad interno (CCI) según programación.

Conocer el cronograma de mantenimiento preventivo de los equipos a su cargo e informar oportunamente al supervisor de calidad o a la jefatura a fin de garantizar el cumplimiento del cronograma y el óptimo funcionamiento de los equipos.

Controlar y Registrar la temperatura diaria de los refrigeradores que se encuentren en su área.

Realizar el pedido quincenal de reactivos y materiales siguiendo el cronograma y en el formato único de pedido de materiales.

Evaluar el desempeño del personal a su cargo e identificar las necesidades de capacitación a los responsables de capacitación en el Área de Laboratorio.

Impartir capacitación interna al personal que la requiera, cuando se les solicite.



# MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

## VII. ANEXOS

### ANEXO Nº 1 Cuadro Resumen Procesamiento de Muestras

PRUEBAS INMUNOCROMATOGRAFICAS					
PRUEBA	MUESTRA	DILUYENTE		T- LECTURA	MARCA
HIV	50 UL SUERO	NINGUNO		20 MINUTOS	Determine HIV
	50 UL SANGRE TOTAL	DESPUES DE UN MINUTO	1 GOTA DE BUFFER	20 MINUTOS	Determine HIV
HBC	50 UL SUERO	1 GOTA DE BUFFER		15 MINUTOS	HBsAg Combo
	50 UL SANGRE TOTAL	DE INMEDIATO	1 GOTA DE BUFFER	15 MINUTOS	HBsAg Combo
HVC	5 UL DE SUERO O PLASMA	2 GOTAS DE BUFFER		10 MINUTOS	ABON
HCG	3 GOTAS (100 UL) DE SUERO U ORINA	NINGUNO		5 MINUTOS	ABON
TROPONINA	2 GOTAS (50 UL) DE SUERO O PLASMA	NINGUNO		10 MINUTOS	ABON
	3 GOTAS (75 UL) DE SANGRE TOTAL	1 GOTA DE BUFFER (40 UL)		10 MINUTOS	ABON
H. PYLORI	50 UL SUERO	1 GOTA DE BUFFER		15 MINUTOS	H. Pylori Combo
	50 UL SANGRE TOTAL	DE INMEDIATO	1 GOTA DE BUFFER	15 MINUTOS	H. Pylori Combo
PSA	1 GOTA (40 UL) DE SUERO	1 GOTA DE BUFFER		5 MINUTOS	ABON
	2 GOTAS (80 UL) DE	1 GOTA DE BUFFER		5 MINUTOS	ABON



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

	<b>SANGRE TOTAL</b>				
<b>PRUEBAS DE AGLUTINACION Y FLOCULACION</b>					
PRUEBA	MUESTRA	REACTIVO	ROTACION	SENSIBILIDAD	MARCA
RPR	50 UL SUERO	20 UL Ag RPR Carbón	8 MINUTOS 100 rpm	NINGUNA	Cromatest
PCR	1 GOTA	1 GOTA	3 MINUTOS	6 mg/L	VEDA LAB
ASO	1 GOTA	1 GOTA	3 MINUTOS	200 IU/mL	VEDA LAB
FR	1 GOTA	1 GOTA	3 MINUTOS	-	-



## MANUAL OPERATIVO ESTANDARIZADO DE INMUNOLOGÍA

### VIII. BIBLIOGRAFÍA.

1. George P. Schmid. Current Opinion in Infectious Diseases 1994; 7: 34-40.
2. Sandra A Larsen et al. Clinical Microbioloy Reviews 1995; 8 (1): 1-21.
3. Young DS, Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC press, 1995.
4. Emanuel Rubin and John Farber. The liver and biliary system. Acute viral hepatitis P 721-729. Rubin E. Farber JL ed. Pathology 2do ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
5. Kaplan PM, Greenman RL, Gerin JL Purcell RH, Robinson WS, DNA polymerase associated with human hepatitis B antigen. J Virol, 1973 12(5): 995-1005.
6. Magnus LO, Espmark A. A new antigen complex co-occurring with Australia antigen. Acta Pathol Microbiol Scand (B) Microbiol Inmunol. 1972;80 (2): 335-7.
7. Chang, SY, Bowman, BH, Weiss, JB, et al. The origin of HIV-1 isolate HTLV IIIB. Nature (1993) 3/363:466-9.
8. Janssen,RS, Satten,GA, Stramer, SL, et al. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. JAMA (1998): 280(1): 42-4.

