



Resolución Directoral

Santa Anita, 15 de mayo de 2024

Visto el expediente N° 24MP-03493-00, que contiene el Memorando N° 082-DAD-HHV-2024, y el Memorando N° 020-SD-DAD-HHV-2024, sobre aprobación del Documento Técnico: "Manual de Procedimientos del Área de Inmunología (Laboratorio) del Servicio al Diagnóstico" del Departamento de Apoyo al Diagnóstico; y,

CONSIDERANDO:

Que, el artículo VI del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, establece que es responsabilidad del Estado promover las condiciones que garanticen una adecuada cobertura de prestaciones de salud a la población, en términos socialmente aceptables de seguridad, oportunidad y calidad, con arreglos a los principios de equidad;

Que, el artículo 4 de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud, establece que el Ministerio de Salud diseña y organiza procesos organizacionales de dirección, operación y apoyo, los mismos que deben implementar las estrategias de mediano plazo. Los subprocesos y actividades componentes se modifican en función de las innovaciones tecnológicas y la reformulación de los objetivos estratégicos, los mismos que se establecen en el Reglamento de la presente Ley y en los Reglamentos Orgánicos subsecuentes;

Que, mediante Ley N° 27658, Ley Marco de Modernización de la Gestión del Estado, se declara al Estado peruano en proceso de modernización en sus diferentes instancia, dependencias, entidades, organizaciones y procedimientos, con la finalidad fundamental de obtener mayores niveles de eficiencia del aparato estatal, de manera que se logre una menor atención a la ciudadanía, priorizando y optimizando el uso de los recursos públicos; siendo su objetivo, alcanzar un Estado al servicio de la ciudadanía, con canales efectivos de participación ciudadana descentralizada y desconcentrado, transparente en su gestión;

Que por Decreto Supremo N° 004-2013-PCM, se aprobó la Política Nacional de Modernización de la Gestión Pública, en donde en el numeral 3, Gestión por Procesos, Simplificación Administrativa y Organización Institucional, del inciso 3.2 Pilares centrales de la Política de Modernización de la Gestión Pública señala que la gestión por procesos debe adoptarse de manera paulatina en todas las entidades, para que brinden a los ciudadanos servicios de manera más eficiente y eficaz y logren resultados que los beneficien. Para ello deberán priorizar aquellos de sus procesos que sean más relevantes de acuerdo a la demanda ciudadana, a su Plan Estratégico, a sus competencias y los componentes de los programas presupuestales que tuvieran a su cargo, para luego poder organizarse en función a dichos procesos;

Que, por Decreto Supremo N° 123-2018-PCM, se aprobó el Reglamento del Sistema Administrativo de Modernización de la Gestión Pública, estableciendo en el literal g) del numeral 7.1 del artículo 7 del citado reglamento, que la gestión por procesos tiene como propósito organizar, dirigir y controlar las actividades de trabajo de una entidad pública de manera transversal a diferentes unidades de organización, para contribuir con el logro de los objetivos institucionales;



Que, por Resolución de Secretaría de Gestión Pública N° 006-2018-PCM-SGP, se aprueba la Norma Técnica N° 001-2018-SGP, Norma Técnica para la Implementación de la Gestión por Procesos en las Entidades de la Administración Pública, cuyo objetivo es establecer disposiciones técnicas para la implementación de la gestión por procesos en las entidades de la administración pública como herramienta de gestión que contribuye con el cumplimiento de los objetivos institucionales, lo cual genera un impacto positivo en bienestar de los ciudadanos;

Que, el artículo 3 de la precitada Resolución de Secretaria dispone que las entidades de la administración pública que cuenten con disposiciones normativas internas que establezcan criterios y reglas para la implementación de la gestión por procesos en sus entidades, deberán adecuarse a lo dispuesto en la Norma Técnica N° 001-2018-SGP;

Que, mediante Resolución Secretarial N° 063-2020-MINSA de fecha 28 de mayo de 2020, se aprobó la Directiva Administrativa N° 288-MINSA/2020/OGPPM – “Lineamiento para la Implementación de la Gestión por Procesos en Salud”, así como sus anexos, con el objetivo de establecer los criterios técnicos para la gestión por procesos que faciliten la determinación, seguimiento, medición, análisis y mejora de los proceso y procedimientos del Ministerio de Salud y de los prestadores de servicios de salud, que permita maximizar el buen uso de los recursos, para brindar productos y servicios óptimos y de calidad en beneficio de la población;

Que, el presente Manual de Procedimientos del Área de Inmunología (Laboratorio) del Servicio de Diagnóstico del Departamento de Apoyo al Diagnóstico, tiene como objetivo difundir los procedimientos técnicos estandarizados para las pruebas de inmunoserología y uniformizar criterios para la interpretación y validación de resultados, establecer los procedimientos y criterios para el control de calidad interno en las pruebas de inmunoserología, servir como documento de consulta en los procesos y procedimientos de inmunoserología y control de calidad;

Que, el Hospital Hermilio Valdizán es un órgano desconcentrado del Ministerio de Salud, dependiente de la Dirección de Redes Integradas en Salud de Lima Este, que brinda atención especializada en salud mental, categoría III-1 y tiene la misión de prestar servicios altamente especializados en salud mental y psiquiatría con calidad, equidad y eficiencia a través de equipos multidisciplinares; desarrollando acciones de promoción, prevención, recuperación y rehabilitación en el individuo, la familia y la comunidad; contribuyendo a crear entornos de vidas saludables con énfasis en las poblaciones de alto riesgo y realizando actividades de enseñanza e investigación;

Que, conforme el artículo 44° del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Hermilio Valdizán, aprobado por Resolución Ministerial N° 797-2003-SA/DM, el Departamento de Apoyo al Diagnóstico es la unidad orgánica que tiene asignado el objetivo funcional de: i) Proponer, ejecutar y evaluar los protocolos y procedimientos de apoyo al diagnóstico y de atención psicológica, orientados a brindar un servicio eficiente, eficaz y con calidad, entre otros objetivos;

Que, el referido Manual de Procedimientos cuenta con opinión técnica favorable de la Unidad de Organización de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, y la aprobación del Departamento de Apoyo al Diagnóstico del Hospital Hermilio Valdizán;

Que, a fin de continuar y facilitar la implementación de la gestión por procesos y procedimientos, garantizando el desempeño a través de resultados previsible y maximizando el uso de los recursos, resulta pertinente emitir el acto resolutivo aprobando el Manual de Procedimiento del Área de Inmunología (Laboratorio) del Servicio al Diagnóstico del Departamento de Apoyo al Diagnóstico del Hospital Hermilio Valdizán;





MINISTERIO SALUD
HOSPITAL "HERMILIO VALDIZAN"
DIRECCION GENERAL



Nº 100 -DG/HHV-2024

Resolución Directoral

Santa Anita, 15 de mayo de 2024

Estando a lo informado por la Oficina de Asesoría Jurídica en el Informe N° 169-OAJ-HHV-2024, y contando con la visación del Jefe del Departamento de Apoyo al Diagnóstico, del Director de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico y de la Jefa de la Oficina de Asesoría Jurídica del Hospital Hermilio Valdizán, resulta conveniente la aprobación del Documento Manual de Procedimientos del Área de Inmunología (Laboratorio) del Departamento de Apoyo al Diagnóstico;

De conformidad a las facultades conferidas por el artículo 11° inciso c), del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Hermilio Valdizán, aprobado por la Resolución Ministerial N° 797-2003-SA/DM y la Resolución Ministerial N° 835-2023/MINSA;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- APROBAR el Documento Técnico: **MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL ÁREA DE INMUNOLOGÍA (LABORATORIO) DEL SERVICIO DE DIAGNOSTICO DEL DEPARTAMENTO DE APOYO AL DIAGNÓSTICO** del Hospital Hermilio Valdizán, el mismo que consta de ochentaisiete (87) páginas y seis (12) anexos, que en documento adjunto forma parte integrante de la presente Resolución.

Artículo 2.- ENCARGAR al Departamento de Apoyo al Diagnóstico la implementación del Manual aprobado en el artículo anterior, su difusión, supervisión y cumplimiento.

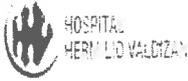
Artículo 3.- ENCARGAR a la Oficina de Estadística e Informática, la publicación de la presente Resolución en el Portal web del Hospital Hermilio Valdizán.

Regístrese, comuníquese y cúmplase.

MINISTERIO DE SALUD
Hospital "Hermilio Valdizán"


Dr. Hugo William Peña Lovatón
DIRECTOR GENERAL
C.M.P. N° 17286 - R.N.E. 7381

HWPL/MAA.
DISTRIBUCIÓN:
OEA
OEPE
OEI
OAJ
DAD
OCI



HOSPITAL HERMILIO VALDIZÁN

DOCUMENTO TÉCNICO: MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL ÁREA DE INMUNOLOGÍA (LABORATORIO)

Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL HERMILIO VALDIZÁN DRA. KELLY ALEJANDRA VARAMILLO MÉDICO PATÓLOGO CLÍNICO CMP 29587 RNE 16085	 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL HERMILIO VALDIZÁN Lic. Leticia Verónica Arenas-Rillo Tecnólogo Médico Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica C.T.M.P. 15054	 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL HERMILIO VALDIZÁN DRA. ROSARIO ALCOCER CASIMIRO JEFE DEL SERVICIO AL DIAGNÓSTICO CMP 39821 RNE 04117
Documento de aprobación	Fecha de aprobación:	

2024

Contenido

INTRODUCCION.....	4
FINALIDAD.....	5
OBJETIVOS.....	6
ÁMBITO DE APLICACIÓN.....	7
BASE LEGAL.....	8
CONTENIDO.....	9
FACTOR REUMATOIDEO; CUALITATIVO.....	11
FACTOR REUMATOIDEO; CUANTITATIVO.....	13
AGLUTININAS DE FIEBRE (P. EJ. BRUCELLA, FRANCISELLA, TIFUS MURINO, FIEBRE Q, FIEBRE POR GARRAPATAS, MONTAÑAS ROCOSAS, TIFUS DE LOS MATORRALES), CADA ANTÍGENO 15	
PROTEINA C-REACTIVA.....	17
MEDICIÓN DE PROTEÍNA C-REACTIVA DE ALTA SENSIBILIDAD.....	19
GONADOTROPINA CORIÓNICA (HCG); CUALITATIVA.....	21
GONADOTROPINA CORIÓNICA (HCG); CUANTITATIVA.....	23
PRUEBA DE SIFILIS; ANTICUERPO NO TREPONÉMICO; CUALITATIVO (P. EJ. VDRL, RPR, ART).....	25
ANEXO 1. PRUEBA CUALITATIVA – RPR.....	26
DETECCIÓN CUALITATIVA DE ANTÍGENO Y ANTICUERPO POR INMUNOCROMATOGRAFÍA PARA VIH 1-2.....	27
ANEXO 2. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HIV.....	29
DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE AGENTE INFECCIOSO MEDIANTE TÉCNICA DE INMUNOENSAJO ENZIMÁTICO, CUALITATIVO O SEMICUANTITATIVO, MÉTODO DE VARIOS PASOS; HEPATITIS B ANTIGENO DE SUPERFICIE (HBSAG).....	30
ANEXO 3. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HEP. B.....	32
ANTICUERPOS; HELICOBACTER PYLORI.....	33
ANEXO 4. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HELICOBACTER PYLORI.....	34
DETECCIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS C POR INMUNOCROMATOGRAFÍA EN SANGRE TOTAL, PLASMA Y/O SUERO.....	36
ANEXO 5. PROCEDIMIENTOS HEP. C.....	37
ANTIESTREPTOLISINA O; TÍTULO.....	39
ANTICUERPO CONTRA; DENGUE.....	41
DOSAJE DE ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO (PSA); COMPLEJOS (MEDICIÓN DIRECTA).....	44
ANEXO 6. PROCEDIMIENTOS PRUEBA PSA.....	45
METABOLITO COCAINA EN ORINA.....	47
ANEXO 7. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA METABOLITO COCAÍNA.....	48



TETRAHYDROCANNABINOL THC (MARIHUANA)	50
DOSAJE DE ANFETAMINA O METANFETAMINA.....	53
ANEXO 9. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA ANFETAMINA O METANFETAMINA.....	54
DOSAJE DE BENZODIAZEPINAS.....	56
ANEXO 10. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA BENZODIAZEPINA.....	57
DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE AGENTES INFECCIOSOS MEDIANTE TÉCNICA DE ENSAYO INMUNOCROMATOGRÁFICO; PRUEBA RÁPIDA; CORONAVIRUS DEL SÍNDROME RESPIRATORIO AGUDO SEVERO (P. EJ., SARS-COV, SARS-COV-2 (ENFERMEDAD POR CORONAVIRUS [COVID-19])	59
ANEXO 11. PROCEDIMIENTO PARA EL HISOPADO NASOFARINGEO.....	60
ANEXO 12. PREPARACIÓN DE MATERIAL PARA HISOPADO NASOFARINGEO	61
DOSAJE DE PROLACTINA	63
TIROXINA; LIBRE	66
TRİYODOTIRONINA T3; LIBRE	69
HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES (TSH)	72
DOSAJE DE CIANOCOBALAMINA (VITAMINA B-12)	76
DOSAJE DE ACIDO FÓLICO; SÉRICO	79
TIPIFICACIÓN DE SANGRE; GRUPO SANGUINEO ABD – PLACA.....	82
RESPONSABILIDADES	84
ANEXOS.....	85
BIBLIOGRAFÍA.....	86



INTRODUCCION



La inmunología tiene como objetivo el estudio de los fenómenos relacionados con la inmunidad, por inmunidad se entiende el conjunto de mecanismos de defensa que protegen contra los micro agresores encontrados en el medio ambiente. Inmunología, palabra de origen latino, etimológicamente significa, privilegio, exención. Su estudio se amplía a considerar las diversas reacciones que utiliza el organismo para mantener su integridad. Se llama reacción inmunitaria a la reactividad nueva y específica que el organismo adquiere después de la introducción de un antígeno infeccioso, molécula, etc. Es importante generar la conciencia de trabajar con calidad, para que el médico siempre tenga confianza en el laboratorio y apoyarse en él, con la certeza que se le apoyará y que éste pueda otorgar al paciente un diagnóstico cercano o definitivo.



En este contexto, el Servicio de Laboratorio del Hospital Hermilio Valdizán está elaborando un Manual de Procedimiento Inmunológicos, cuyo objetivo es exponer de manera clara las prácticas implementadas en esta área, desarrollar habilidades y aptitudes necesarias para el manejo adecuado de muestras biológicas, realizar técnicas y métodos inmunológicos que apoyarán en el diagnóstico certero y oportuno de padecimiento inmunes aplicado a los pacientes de salud mental y que cursen con interurrencias médicas.

Cada una de las pruebas de laboratorio expuestas presentan una breve introducción como significado clínico, fundamentos teóricos de cada técnica, descripción general de los procedimientos, algunas notas sobre los principales cuidados e interpretación de la prueba.

Finalmente, este manual está sujeto a modificaciones y otros aportes que los colaboradores puedan hacernos llegar para mejorarlo en beneficio de todos los trabajadores y usuarios del Hospital Hermilio Valdizán.

FINALIDAD

Este manual tiene como finalidad uniformizar los procedimientos de diagnóstico serológico de las principales enfermedades inmunológicas estandarizadas en el servicio de laboratorio del Hospital Hermilio Valdizán, esperando que pueda convertirse en una herramienta útil para la capacitación del personal que integra esta institución.

Disponer de un instrumento que exponga la importancia de la determinación de realizar una correcta toma de muestras para el procesamiento de las mismas, con la finalidad de brindar un correcto reporte de resultados que sean confiables y de calidad para los pacientes y personal del Hospital Hermilio Valdizán.





OBJETIVOS

Este manual de inmunología constituye una herramienta que permitirá orientar el personal sobre las técnicas y procedimientos adecuados que permitan garantizar la confiabilidad de los resultados, uniformizando los criterios para su interpretación y validación.

1.- Difundir los procedimientos técnicos estandarizados para las pruebas de inmunoserología y uniformizar criterios para la interpretación y validación de resultados.

2.- Establecer los procedimientos y criterios para el control de calidad interno en las pruebas de inmunoserología.

3.- Servir como documento de consulta en los procesos y procedimientos de inmunoserología y control de calidad.

Normar y documentar los procedimientos técnicos para la toma de muestras biológicas obtenidas en las instalaciones del Laboratorio del Hospital Hermilio Valdizán.



ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente manual es de aplicación en el laboratorio del Hospital Hermilio Valdizán, el mismo que cuenta con personal calificado, instalaciones, equipos y materiales idóneos para llevar a cabo el diagnóstico serológico de las enfermedades inmunológicas a partir de muestras de pacientes hospitalizados, de emergencia y de consultorio externo.



BASE LEGAL

1. Ley No. 26842, Ley General de Salud.
2. Decreto Legislativo No. 1161, crea la Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud.
3. Resolución Ministerial No. 826 – 2021/ MINSA, aprueba “Normas para la elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud.



CONTENIDO

TÉRMINOS Y DEFINICIONES

1. **ABSORBANCIA.** Propiedad de una molécula o conjunto de ellas por retener parte de las longitudes de onda de un espectro de luz, no permitiendo su pasaje.
2. **ANÁLISIS.** En la práctica laboratorial, la realización técnica de un proceso, básicamente la determinación de algún compuesto.
3. **AGLUTININA.** Término aplicado a determinadas sustancias específicas, (anticuerpos), contenidas en algunos sueros, y que son capaces de provocar aglutinación, de ciertas bacterias, glóbulos rojos (hemaglutinina), por estímulo de los aglutinógenos presentes en estos elementos.
4. **ANALITO.** Elemento capaz de ser analizado o determinado.
5. **ANTICUERPO.** Globulinas séricas particulares que tienen la propiedad de combinarse de una manera específica con ciertas sustancias extrañas solubles o celulares, que les corresponden y son denominadas antígenos.
6. **ANTIANTICUERPO.** Anticuerpo capaz de ejercer su acción sobre las proteínas plasmáticas (por ejemplo, aglutinándolas) y por consiguiente sobre los anticuerpos.
7. **EPÍTOPO.** Estructura de un antígeno (fragmento de un antígeno) que es reconocido por un receptor antigénico (anticuerpo o receptor sobre la superficie de la célula T).
8. **CORRIDA.** Término utilizado en la práctica laboratorial, la cual denota el proceso por el cual se determinan concentraciones de un analito en un mismo tiempo o en serie.
9. **CROMÓGENO.** Sustancia o componente químico capaz de virar hacia una tonalidad de color dentro de una reacción química.
10. **ENZIMA.** Proteína que cataliza una reacción química.
11. **INMUNOSEROLÓGICO.** Procedimiento que permite estudiar la presencia de anticuerpos en el suero sanguíneo.





12. **KIT.** Denominación de un set o contenedor de diversos productos reactivos y materiales necesarios para un análisis.
13. **MÉTODO.** Proceso o conjunto de procesos que permiten realizar una actividad, en este caso un análisis. Las técnicas son variaciones para poner en la práctica un método.
14. **PRESERVACIÓN.** Resguardo de las condiciones originales de los componentes químicos en una solución.
15. **METODO DE ELISA .** (*enzyme linked immunosorbent assay*- ensayo inmunoabsorbente conjugado a enzimas). Ensayo serológico en que la unión del antígeno o del anticuerpo se detecta porque éstos se hallan conjugados a una enzima que, al actuar sobre un sustrato incoloro, da origen a una reacción coloreada. Este ensayo es ampliamente utilizado en biología y medicina, así como en inmunología.
16. **REPRODUCIBILIDAD.** Capacidad de verificar una misma concentración bajo el mismo método de análisis, pero con analista distinto y en un momento diferente de la determinación original.
17. **REPETITIBILIDAD.** Capacidad de mantener la determinación de una concentración analítica bajo las mismas condiciones de analista, equipo y momento.
18. **STANDARD.** Solución o sustancia pura de concentración conocida.
19. **SUERO CONTROL.** Solución de analitos que se utiliza en el control de Precisión. La concentración obedece a una media y a un rango de valores calificados a ambos lados de esta media.



FACTOR REUMATOIDEO; CUALITATIVO

Significado Clínico

La mayoría de los sueros de pacientes afectados de Artritis Reumatoide tienen la propiedad de reaccionar con la inmunoglobulina G no sólo humana sino también de otras especies. Ello es debido a la presencia en los mismos de un grupo de anticuerpos estrechamente relacionados que se conoce como “factor reumatoide”. Esta reacción es del tipo antígeno-anticuerpo, actuando el factor reumatoide en la misma como un anticuerpo.

Procedimiento

El procedimiento serológico para la detección del factor reumatoide consiste en poner en presencia del suero del enfermo partículas sensibilizadas con gammaglobulina, ya sea humana o de otra especie, observándose la aparición o la ausencia de aglutinación. Para este efecto pueden utilizarse distintos tipos de partículas como hematíes, látex, carbón e incluso bacterias, siendo los hematíes los que presentan mayor especificidad.

Principio

El reactivo de Factor Reumatoide (AR) es una suspensión de hematíes de cordero estabilizados y sensibilizados con gammaglobulina de conejo que reaccionará con el factor reumatoide presente en el suero.

Cuando se mezcla el reactivo del Factor Reumatoide (AR) con el suero no diluido, si éste contiene más de 5 UI/ml de factor reumatoide se producirá una clara aglutinación. El enfrentar una dilución 1:10 del suero con el reactivo permitirá una más amplia interpretación de los resultados. De esta forma si la reacción del suero no diluido con el reactivo es positiva y por el contrario la del suero diluido 1:10 es negativa, podemos interpretar que se trata de un título bajo de factor reumatoide, propio también de una serie de enfermedades ajenas a la artritis reumatoide como el lupus eritematoso, endocarditis, tuberculosis, sífilis, enfermedades víricas, etc.

Los resultados se expresan en UI/ml de factor reumatoide de acuerdo con la Preparación Internacional de Referencia de Suero de Artritis Reumatoide (OMS).

TEST CUALITATIVO

1. Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente.
2. Dosificar 50 ul de suero (o una gota de control) en una de las secciones del portaobjetos.
3. Agitar el vial del reactivo y añadir una gota de reactivo junto a la gota de suero.
4. Mezclar ambas gotas con un palillo cubriendo toda la superficie de la sección del portaobjetos.

Agitar el portaobjetos con un suave movimiento de rotación, ya sea manualmente o en un agitador rotatorio (60-80 rpm) durante 2 minutos.

Observar la presencia o ausencia de aglutinación.

7. Si se observa aglutinación, diluir el suero 1:10 en solución salina y repetir la prueba.

Interpretación de los resultados

Reacciones positivas:

La presencia de aglutinación indica un contenido de factor reumatoide en el suero no diluido o superior a 5UI/ml. Si se observa aglutinación, diluir el suero 1:10 en solución salina y repetir la prueba. Si el suero diluido 1:10 también presenta aglutinación podemos pensar en un título elevado de factor reumatoide.

TEST CUANTITATIVO

Preparación de diluciones dobles seriadas del suero en solución salina, desde 1:10 hasta 1:1280:

1. Preparar 8 tubos de ensayo y rotularlos convenientemente.
2. Dosificar 0.9 ml de solución salina en el tubo 1 y 0.5 ml en los tubos 2 al 8.
3. Añadir 0.1 ml de suero al tubo 1 y con ayuda de la misma pipeta, mezclar y transferir 0.5 ml de la mezcla al tubo 2.
4. Mezclar el contenido del tubo 2 y transferir 0.5 ml de la mezcla al tubo 3 y así sucesivamente hasta el tubo 8.
5. Comprobar cada dilución.

Interpretación de los resultados

Título de factor reumatoide de un suero es la dilución más alta que aún presente aglutinación claramente visible.

FACTOR REUMATOIDEO; CUANTITATIVO

Significado Clínico



Los factores reumatoideos (FR) son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos dirigidos contra el fragmento Fc de la IgG. Generalmente pertenecen al tipo IgM aunque también se han hallado FR de todos los tipos de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgD e IgE). Los FR se encuentran en un 70-80% de los pacientes adultos con artritis reumatoidea, en un 10% de jóvenes con artritis reumatoidea juvenil y en una variedad de otras enfermedades del tejido conectivo tales como: LES, síndrome de Sjögrens, esclerosis sistémica, polimiositis, etc. Los FR son los autoanticuerpos más comúnmente encontrados en pacientes con artritis reumatoidea y por ello representan la determinación serológica más requerida para el diagnóstico de dicha enfermedad. Su hallazgo aislado no determina la presencia de la enfermedad y es sólo uno de los tantos criterios necesarios (clínicos, radiológicos y de laboratorio) para el diagnóstico de artritis reumatoidea.

Principio del método



Los factores reumatoideos presentes en la muestra son capaces de aglutinar las partículas de látex recubiertas con γ -globulina humana. La turbidez causada por la aglutinación de las partículas de látex es proporcional a la concentración de FR en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.
Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.
No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

A) METODOLOGÍA AUTOMATIZADO



Para el proceso automatizado: Posteriormente se haya verificado la corrida de controles y éstas son óptimas, se procede a ingresar las muestras de acuerdo a su registro en el analizador, se registran los apellidos y nombres junto con su codificación interna, sin la tapa o en copas transparentes se colocan los tubos previamente centrifugados, verificando que no tengan restos de fibrina, en el carrusel de muestras por orden de prioridad en el siguiente orden:

Se colocan en el carrusel las muestras, en el equipo se registran de forma manual los apellidos, nombres y analitos solicitados en la orden médica.

Se inicia el procesamiento de las muestras dando EMPEZAR en la pantalla integrada del analizador.

El analista verifica el analizador; si el analizador arroja alarmas se procede a revisar y solucionar el evento ocurrido, se detalla el evento y se toma una acción preventiva y correctiva para evitar futuras alarmas.

Interpretación de los resultados

VALORES REFERENCIALES DE FACTOR REUMATOIDEO; CUANTITATIVO

Muestra	Rangos
Suero o plasma	0 - 20 UI/ml



AGLUTININAS DE FIEBRE (P. EJ. BRUCELLA, FRANCISELLA, TIFUS MURINO, FIEBRE Q, FIEBRE POR GARRAPATAS, MONTAÑAS ROCOSAS, TIFUS DE LOS MATORRALES), CADA ANTÍGENO

Significado Clínico

Los reactivos de Antígenos Febriles (antígeno de aglutinación bacteriana), son una suspensión bacteriana para usar en pruebas de aglutinación, en lámina o tubo, para investigar la presencia de bacterias (infección bacteriana) o exposición previa al organismo relacionado.

Se recomiendan dos procedimientos: la prueba de aglutinación rápida en lámina, procedimiento de tamizaje, se usa para establecer la presencia o ausencia de anticuerpos homólogos y la prueba de aglutinación en tubo la cual se usa para establecer el título del anticuerpo.

Principio

El principio de la prueba es una reacción inmunológica entre los anticuerpos (aglutininas) y las bacterias atenuadas presentes en el reactivo.

Procedimiento

Materiales requeridos

- Antígenos febriles “O”, “H”, “A”, “B”.
- Lámina de vidrio transparente o con lámina portaobjeto.
- Lápiz de cera.
- Pipetas
- Aplicadores
- Tubos de prueba
- Solución de Cloruro de Sodio: NaCl 0.9%
- Rotador (opcional)
- Reloj
- Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.

PRUEBA RAPIDA EN LÁMINA

1. En una lámina de vidrio transparente y clara, dividirla en cuadrados de 1 ½ pulgada con un lápiz de cera. Una pequeña ventana panel puede ser usada para este propósito. El uso de láminas portaobjeto también es recomendado.
2. Dispensar las siguientes cantidades de suero: 0.08 ml, 0.04 ml, 0.02 m., 0.01 ml, 0.005 ml.
3. Agitar el antígeno para asegurar una suspensión uniforme y añadir una gota de suspensión de antígeno justo debajo de cada cantidad de suero.



4. Mezclar el suero y el antígeno usando los aplicadores. Usar aplicadores por separado para cada cantidad de suero. Cada mezcla debe formar un área de aproximadamente $\frac{1}{4}$ de pulgada por 1 pulgada.
5. Rotar la lámina manualmente o en un rotador a 150 r.p.m. por 2 – 3 minutos.
6. Observar la aglutinación usando una buena fuente de luz.
7. Un suero positivo de título conocido y un suero negativo debe ser incluido en los controles.

A pesar que la prueba en lámina no es recomendada para establecer el título, la cantidad de suero dando 50% de aglutinación puede ser usada para establecer el título aproximado del suero.



PROTEINA C-REACTIVA

Significado Clínico

La Proteína C-reactiva es una proteína de fase aguda, presente en el suero de pacientes sanos, la cual puede incrementarse significativamente en la mayoría de procesos infecciosos bacterianos y virales, tejidos dañados, inflamación y neoplasias malignas. El incremento de concentración de esta proteína se produce después de unas horas de desarrollarse la inflamación pudiendo alcanzar niveles de 300 mg/L en 12 – 24 horas.

Principio del Método

La PCR-Látex es una técnica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de PCR en suero humano. Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-PCR humana son aglutinadas por moléculas de PCR presentes en la muestra del paciente.

Muestras

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

Método cualitativo

1. Colocar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50 uL de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta.
3. Homogeneizar suavemente el reactivo de PCR – látex antes de usar. Depositar una gota (50uL) junto a cada una de las gotas anteriores.
4. Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.

Situar el porta sobre un agitador rotatorio a 80 – 100 r.p.m. y agitar durante 2 minutos. El exceso de tiempo puede originar la aparición de falsos positivos.

Método semicuantitativo

1. Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina 9 g/L.
2. Proceder para cada dilución, como en la prueba cualitativa.

Lectura e interpretación de resultados

Examinar microscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador. La presencia de aglutinación indica una concentración de PCR igual o superior a 6 mg/L.

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

Valores de Referencia y Cálculos

Hasta 6 mg/L.

La concentración aproximada de PCR en la muestra del paciente se obtiene aplicando la siguiente fórmula :

$$6 \times \text{Título de PCR} = \text{mg/L}$$

Consideraciones

1. Una concentración muy elevada de PCR en la muestra del paciente puede dar lugar a un resultado falsamente negativo debido al efecto prozona (efecto que produce falsos negativos). Se recomienda re-ensayar la muestra utilizando un volumen de 20 uL.
2. La intensidad de la aglutinación no es indicativa de la concentración de PCR en las muestras ensayadas.
3. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.





MEDICIÓN DE PROTEÍNA C-REACTIVA DE ALTA SENSIBILIDAD

Significado Clínico

En 1930, Tillet y Francis encontraron una sustancia en el suero de pacientes con infecciones neumococcicas con capacidad de unirse al polisacárido-C de la pared celular del *Streptococcus pneumoniae*. Años más tarde, esta sustancia fue caracterizada como una proteína inespecífica relacionada a procesos inflamatorios y/o infecciosos agudos y consecuentemente, fue denominada Proteína C Reactiva (CRP).

Debido a la velocidad y a la magnitud de su respuesta, la CRP es reconocida como uno de los marcadores más sensibles de fase aguda. Después de infarto de miocardio, stress, trauma, infección, inflamación, cirugías o proliferación neoplásica, el nivel de CRP puede aumentar dentro de las 24 a 48 horas del episodio hasta 2000 veces con respecto a valores de referencia. Sin embargo, el incremento de CRP es inespecífico y no puede ser interpretado sin conocimiento de la historia clínica completa y de los valores previos del paciente.

La determinación de CRP es clínicamente útil en el screening de enfermedades infecciosas e inflamatorias; para monitorear la actividad inflamatoria de enfermedades como la artritis reumatoidea; para la detección de infecciones intercurrentes en lupus eritematoso sistémico, leucemia o después de cirugía; para la detección de rechazo de transplantes y para el manejo de septicemias y meningitis neonatal. Evidencia reciente ha claramente demostrado que incrementos en CRP dentro del intervalo de referencia está asociado con eventos cardiovasculares futuros en sujetos con y sin enfermedad cardiovascular establecida. Individuos con un nivel de CRP basal en el cuartil más alto tienen 2 a 4 veces más riesgo de presentar en el futuro: infartos de miocardio, stroke isquémico, enfermedad vascular periférica o muerte cardíaca súbita, que aquellos individuos con un nivel de CRP en el cuartil más bajo.

Comparando con marcadores nuevos y tradicionales de enfermedad coronaria, la CRP mostró ser el predictor más fuerte de eventos coronarios futuros y cuando se combina con colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol mejora notablemente su valor predictivo. Con el fin de evaluar el riesgo de enfermedades cardiovasculares en individuos aparentemente sanos se requieren métodos de mayor sensibilidad que los métodos tradicionales para la determinación de CRP.

Principio del método

La CRP presente en la muestra, es capaz de aglutinar las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-CRP. La turbidez causada por la aglutinación de las partículas de látex es proporcional a la concentración de CRP en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

Para el proceso automatizado: Posteriormente se haya verificado la corrida de controles y éstas son óptimas, se procede a ingresar las muestras de acuerdo a su registro en el analizador, se registran los apellidos y nombres junto con su codificación interna, sin la tapa o en copas transparentes se colocan los tubos previamente centrifugados, verificando que no tengan restos de fibrina, en el carrusel de muestras por orden de prioridad en el siguiente orden:

Se colocan en el carrusel las muestras, en el equipo se registran de forma manual los apellidos, nombres y analitos solicitados en la orden médica.

Se inicia el procesamiento de las muestras dando EMPEZAR en la pantalla integrada del analizador.

El analista verifica el analizador; si el analizador arroja alarmas se procede a revisar y solucionar el evento ocurrido, se detalla el evento y se toma una acción preventiva y correctiva para evitar futuras alarmas.

Interpretación de los resultados

Muestra	Rangos
Suero o plasma	0 - 5 mg/l



GONADOTROPINA CORIÓNICA (hCG); CUALITATIVA

Significado Clínico

La Gonadotropina Coriónica humana (hCG) es una hormona glucoproteica producida por la placenta en desarrollo poco después de la fertilización. En el embarazo humano, la hCG puede detectarse tanto en orina como en suero ya a los 7 – 10 días de la concepción. Los niveles de hCG continúan aumentando muy rápidamente, superando las 100 mUI/ml tras la primera falta y alcanzando el máximo en torno a 100.000 – 200.000 mUI/ml a las 10 – 12 semanas de embarazo. La aparición de hCG en orina y suero poco después de la concepción y su posterior aumento rápido durante el principio de la gestación convierten a esta hormona en un excelente marcador para la detección precoz del embarazo.

Principio del método

La prueba Ultra hCG de Embarazo en un solo paso en Tira (orina/suero), es una prueba rápida que detecta cualitativamente la presencia de hCG en una muestra de orina o suero con una sensibilidad de 10 mUI/ml.

La prueba utiliza una combinación de anticuerpos monoclonales y policlonales para detectar selectivamente los niveles elevados de hCG en orina o suero.

Obtención y Preparación de muestras.

Valoración en Orina

Se debe tomar una muestra de orina en un envase limpio y seco. Se prefiere la primera muestra de orina de la mañana, ya que contiene generalmente la concentración más alta de hCG; sin embargo, se pueden usar muestras de orina recogidas en cualquier momento del día. Las muestras de orina que presenten precipitados visibles se deberán centrifugar, filtrar o dejar posar para obtener una muestra transparente para la realización de la prueba.

Valoración en Suero

La sangre se extraerá asepticamente en un tubo limpio sin anticoagulantes. Separar el suero de la sangre en cuanto sea posible, para evitar la hemólisis. Siempre que sea posible, usar muestras transparentes no bemozadas.

Procedimiento

1. Dejar que la tira, la muestra de orina o suero y/o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30° C) antes de realizar la prueba.
2. Dejar estabilizar la bolsa o envase a temperatura ambiente antes de abrirla. Extraer la tira de la bolsa sellada o el envase cerrado y usarla en cuanto sea posible.
3. Importante: Para el embalaje del envase, cerrar inmediatamente el envase después de extraer el número necesario de tiras. Registrar la fecha de apertura inicial del envase. En cuanto se ha abierto el envase, las tiras sobrantes quedan estables durante 90 días solamente.



4. Con las flechas señalando hacia la muestra de orina o suero, sumergir la tira verticalmente en la muestra de orina o suero al menos durante 10 - 15 segundos. No sumergir por encima de la línea máxima (MAX) de la tira.
5. Colocar la tira en una superficie plana no absorbente, poner en marcha el cronómetro y esperar hasta que aparezcan una o dos líneas coloreadas.
6. Leer el resultado a los 3 minutos cuando se analiza la muestra de orina o a los 5 minutos cuando se analiza la muestra de suero.
7. Una concentración baja de hCG podría dar lugar, después de un período de tiempo prolongado, a la aparición de una débil línea en la región de la prueba (T); por lo tanto, no interpretar el resultado después de 10 minutos.

Interpretación de los resultados

POSITIVO: Aparecen dos líneas coloreadas distintas. Una línea quedará en la región de control (C) y otra línea quedará en la región de la prueba (T).

La intensidad del color de la línea de la región de la prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración de hCG presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier coloración, por muy débil que sea ésta, en la línea de la región de la prueba (T) deberá considerarse positiva.

NEGATIVO: Una línea coloreada aparece en la región de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en la región de la prueba (T).



GONADOTROPINA CORIÓNICA (HCG); CUANTITATIVA

Significado Clínico



La gonadotropina coriónica humana (hCG) es producida por el tejido trofoblástico 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 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 mIU/mL.

Se han reportado concentraciones de un valor alto 100.000 mIU/mL en embarazos normales durante el primer trimestre. En sujetos normales, la HCG en orina proporciona una indicación temprana del embarazo. Dado que los niveles elevados de HCG también se asocian con la enfermedad trofoblástica y ciertas neoplasias no trofoblásticas, se debe eliminar la posibilidad de tener estas enfermedades antes de realizar un diagnóstico de embarazo.



La prueba HCG está diseñada 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 pueden estar presente en el plasma u orina humanos.

Principio del método

El kit de prueba de HCG (Inmunoensayo de fluorescencia seca) utiliza el principio de reacción antígeno-anticuerpo. Una vez colocada la muestra en el punto de recepción del cassette, la muestra líquida migrará hacia delante del cassette por capilaridad, luego el HCG de la muestra se combinará con los anticuerpos que están adheridos a microesferas fluorescentes.



Este compuesto marcado seguirá su flujo y se unirá a los anticuerpos inmovilizados en el área de detección, y el resto de microesferas seguirán su flujo hacia el área de control. Cuando el cassette de prueba se inserta en el analizador, este escanea automáticamente las dos cintas y detecta la intensidad de emisión de fluorescencia del compuesto en el área de ensayo y el área de control. La relación de los dos valores de fluorescencia se utiliza para calcular el contenido de la sustancia detectada.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.



Procedimiento

1. Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelado. Una vez descongelada, mezcle bien la muestra antes de realizar el análisis.
2. El suero a analizar debe encontrarse limpio sin indicios de características hemolizadas.
3. Tomar un casete y abrir el paquete con cuidado, evitando cualquier contaminación.
4. Rotular el casete con los datos del paciente y la codificación interna.
5. Pipetear 10 ul de muestra en el tubo cónico que contiene el diluyente de la prueba.
6. Mezclar por 60 segundos para homogenizar la muestra con el diluyente.
7. Agregar 100 ul de la muestra previamente diluida y agregar en el pocillo del casete.
8. Insertar el casete en el equipo y colocar los datos del paciente en el sistema del equipo.
9. Revisar el resultado después de 15 minutos de incubación.

Interpretación de los resultados

Valores de Referencia	
Resultado	Interpretación
<5 mIU/mL	Negativo
5-200,000 mIU/mL	Gestantes
5-50 mIU/mL	3 semanas
5-426 mIU/mL	4 semanas
18-7,340 mIU/mL	5 semanas
1,080-56,500 mIU/mL	6 semanas
7,650-229,000 mIU/mL	7-8 semanas
25,700-288,000 mIU/mL	9-12 semanas
13,300-254,000 mIU/mL	13-16 semanas
4,060-165,400 mIU/mL	17-24 semanas
3,640-117,000 mIU/mL	25-40 semanas

PRUEBA DE SIFILIS; ANTICUERPO NO TREPONÉMICO; CUALITATIVO (P. EJ. VDRL, RPR, ART)

Significado Clínico

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

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

Principio del método

En la prueba rápida para reaginas plasmáticas (RPR), las “reaginas” presentes en el suero de individuos infectados con *Treponema pallidum*, se detectan por acción de las mismas con antígeno de cardiolipina, lecitina y colesterol adsorbido sobre partículas de carbón.

La reacción produce una aglutinación visible macroscópicamente, favorecida por las partículas de carbón.

Las reacciones inespecíficas se evitan con el empleo de antígeno altamente purificado y el agregado de cloruro de colina, por lo que no es necesario inactivar la muestra.

Obtención y Preparación de la muestra

Suero o plasma

- Recolección: obtener la muestra de la manera usual
- Aditivos: en caso de obtener plasma, utilizar heparina, EDTA, fluoruro u oxalato de sodio como anticoagulantes.
- Sustancias interferentes conocidas: hemólisis o hiperlipemia pueden provocar resultados erróneos, así como el exceso de anticoagulante empleado en la obtención de plasma.
- Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si no se procesa en el momento, el suero puede conservarse hasta 7 días en refrigerador (2 – 10°C). El plasma debe emplearse antes de las 24 horas de efectuada la extracción.

Procedimiento

I.- Prueba Cualitativa

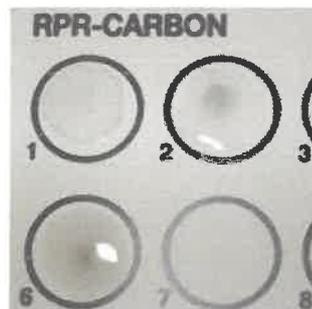
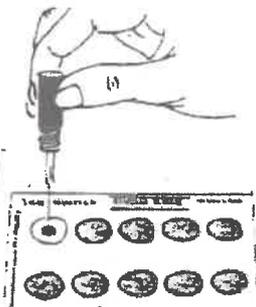
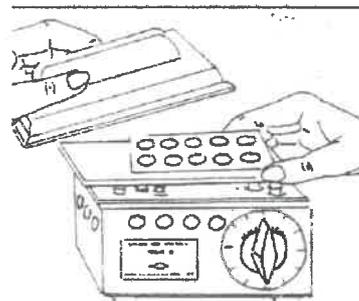
Llevar a temperatura ambiente los reactivos y la muestra antes de realizar el ensayo. En cada uno de los círculos de la tarjeta de reacción colocar con un gotero plástico provisto: Muestra o controles : 1 gota (50ul).



Con el extremo cerrado del gotero distribuir la muestra uniformemente en todo el círculo. Con el gotero metálico provisto, en posición vertical, agregar en el centro del círculo: reactivo A 1 gota (17ul).

Sin mezclar, hacer rotar horizontalmente la tarjeta de reacción en forma manual o con agitador rotativo a 100 rpm durante 8 minutos. Observar la presencia o ausencia de aglutinación al cabo de este tiempo. Tiempos de lectura mayores pueden dar lugar a falsos resultados.

ANEXO 1. PRUEBA CUALITATIVA – RPR



II.- Prueba Semicuantitativa

Efectuar diluciones seriadas 1:2, 1:4, 1:8, hasta 1:64 empleando solución fisiológica y proceder de la misma manera que en la técnica cualitativa. El título estará dado por la inversa de la última dilución que se observe reactiva.

Interpretación de los resultados

Reactivo: Presencia de aglutinación visible en forma de grumos negros sobre el fondo claro que indica presencia de “reaginas” en la muestra.

No reactivo: aspecto gris homogéneo que indica ausencia de “reaginas” en la muestra.

Método de control de calidad

Para controlar la calidad del sistema procesar un Control Positivo y un Control Negativo utilizándolos de la misma forma que la muestra.



DETECCIÓN CUALITATIVA DE ANTÍGENO Y ANTICUERPO POR INMUNOCROMATOGRAFÍA PARA VIH 1-2

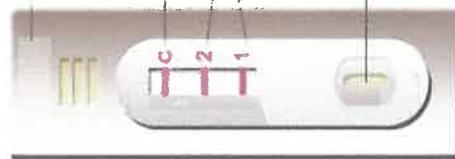
Indicaciones

El ensayo de HIV 1 / 2 prueba rápida (tiras o casetes) es una prueba inmunocromatográfica de cribado de un solo uso que emplea un cóctel de antígenos para detectar la presencia de anticuerpos anti VIH 1 y 2 en suero, plasma o sangre completa. Los resultados reactivos son indicios de exposición al VIH1/2 y pueden utilizarse para apoyar un diagnóstico clínico de VIH 1 o VIH 2. Los resultados no reactivos, sin embargo, no deben utilizarse para excluir la infección por VIH 1 o 2.

Principio de la prueba

La prueba rápida HIV 1/2 Ab Plus Combo es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba de casete consiste en: 1) una almohadilla con conjugado de color borgoña que contiene antígeno VIH-1 recombinante conjugado con coloide de oro (VIH-1 conjugado), antígeno VIH-2 recombinante conjugado con coloide de oro (VIH-2 conjugado), y control de anticuerpo conjugado con oro coloidal; 2) una banda en membrana de nitrocelulosa que contiene dos bandas de prueba (bandas 1 y 2) y la banda de control (banda C). La banda 1 es pre-recubierta con antígeno VIH -1 para la detección de anticuerpos contra el VIH- 1; y la banda 2 esta pre-recubierta con antígeno VIH -2 para la detección de anticuerpos contra el VIH-2, y la banda C está pre-recubierta con un control de anticuerpo.

Identificación de la muestra Banda de control Líneas de prueba Pozo de muestra



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

Los anticuerpos VIH-2, si están presentes en la muestra, migran a través de la membrana hasta unirse con el conjugado VIH-2. El inmunocomplejo es entonces capturado por la membrana pre-recubierta de antígeno VIH-2, formando una banda color borgoña en la banda 2, indicando un resultado positivo o reactivo. La ausencia de esta banda en esa

región sugiere un resultado negativo o no reactivo para anticuerpos anti-VIH-2. La ausencia de cualquiera de la banda 2 sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (banda C) que debe exhibir una banda de color borgoña por la formación de un inmunocomplejo de anticuerpos de control, independientemente de la presencia de cualquier banda coloreada. De no presentarse, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

Obtención y Preparación de la muestra

Suero o plasma

- a) **Recolección:** obtener la muestra de la manera usual
- b) **Aditivos:** en caso de obtener plasma, utilizar heparina, EDTA, fluoruro u oxalato de sodio como anticoagulantes.
- c) **Sustancias interferentes conocidas:** hemólisis o hiperlipemia pueden provocar resultados erróneos, así como el exceso de anticoagulante empleado en la obtención de plasma.
- d) **Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** si no se procesa en el momento, el suero puede conservarse hasta 7 días en refrigerador (2 – 10°C). El plasma debe emplearse antes de las 24 horas de efectuada la extracción.

Procedimiento

Verificar las muestras con las órdenes con la finalidad de evitar errores en el proceso.

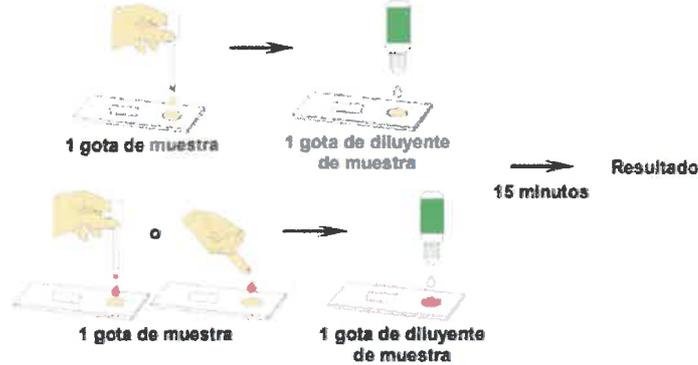
Paso 1: Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados. Una vez descongelada, mezcle bien la muestra antes de realizar el ensayo.

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

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

Paso 4: Llene el gotero plástico con la muestra. Mantenga el gotero verticalmente, vierta 1 gota (de 35 a 45µL) de suero/plasma o 1 gota de sangre (de 40 a 50 µL) en la cavidad para muestras asegurándose de que no haya burbujas de aire. Luego, adicione inmediatamente 1 gota (de 35 a 50µL) de diluyente de muestra en la cavidad para las muestras.

ANEXO 2. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HIV



Paso 5: Programe el cronómetro.

Paso 6: Los resultados pueden leerse en el transcurso de 15 minutos.

NOTA: Los resultados positivos son visibles en un tiempo de 1 minuto. No realice la lectura del resultado después de 15 minutos. Para evitar confusiones, deseche el dispositivo de prueba después de interpretar su resultado.

CONTROL DE CALIDAD

- Si la prueba se ha realizado correctamente y el dispositivo funciona adecuadamente, siempre deberá aparecer una línea de color rosa/morado en el área de CONTROL. Esta línea sirve como control interno del procedimiento.
- Las buenas prácticas de laboratorio (BPL) recomiendan el uso de materiales de control junto con las muestras para confirmar el funcionamiento correcto del kit de pruebas. Para ello deben utilizarse controles comerciales de suero o plasma reactivos y no reactivos. Tener en cuenta que algunos controles comerciales diseñados para el método ELISA no funcionarán correctamente con el ensayo de Tiras reactivas.

Interpretación de los Resultados

Interpretación		
Negativo	Positivo	Invalido
Si solo aparece la banda C, la prueba indica que no hay presencia de anticuerpo detectable para H. pylori en la muestra. En este caso el resultado es negativo.	Si aparecen las bandas C y T, la prueba indica que hay presencia de anticuerpo para H. pylori en la muestra. En este caso el resultado es positivo.	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. El análisis se debe repetir con un nuevo dispositivo.
	 	 

DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE AGENTE INFECCIOSO MEDIANTE TÉCNICA DE INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO, CUALITATIVO O SEMICUANTITATIVO, MÉTODO DE VARIOS PASOS; HEPATITIS B ANTIGENO DE SUPERFICIE (HBSAG)

Significado Clínico



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

El VHB es un virus ADN hepatotrópico. El core de este virus contiene ADN polimerasa 2, el antígeno core (HBcAg)3 y el antígeno e (HBeAg). El core 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 sangre en la fase aguda de la hepatitis B, es detectado 1 semana a 2 meses después de la exposición, y de 2 semanas a 2 meses antes de la aparición de los síntomas. Tres semanas después del inicio de hepatitis aguda casi la mitad de los pacientes todavía es positivo para el HBsAg. En la fase crónica, el HBsAg persiste por un largo periodo (6-12 meses) sin seroconversión para los anticuerpos correspondientes. Por lo tanto, la detección de HBsAg es altamente recomendable para todos los donantes, las mujeres embarazadas y las personas en grupos de alto riesgo.

La prueba rápida HBsAg Combo detecta el HBsAg en suero, plasma o sangre total humana en 15 minutos y puede ser realizada por personal mínimamente entrenado sin necesidad de equipo de laboratorio.

Principio del método

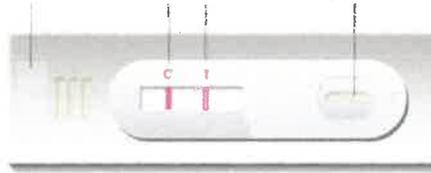
La prueba rápida HBsAg Combo es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba del casete consiste en:



1) una membrana con conjugado coloreado de borgoña que contiene anticuerpos anti-HBsAg conjugados con oro coloidal (conjugado HBsAg Ab) y un control de anticuerpo conjugado con oro coloidal,

2) una membrana de nitrocelulosa que contiene la banda de prueba (banda T) y una banda de control (banda C). La banda T está pre-recubierta con otros anticuerpos anti-HBsAg, y la banda C está pre-recubierta con un control de anticuerpo.

Identificación
de la muestra Banda de
Control Línea de
prueba Pozo de
muestra



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

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

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.
No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

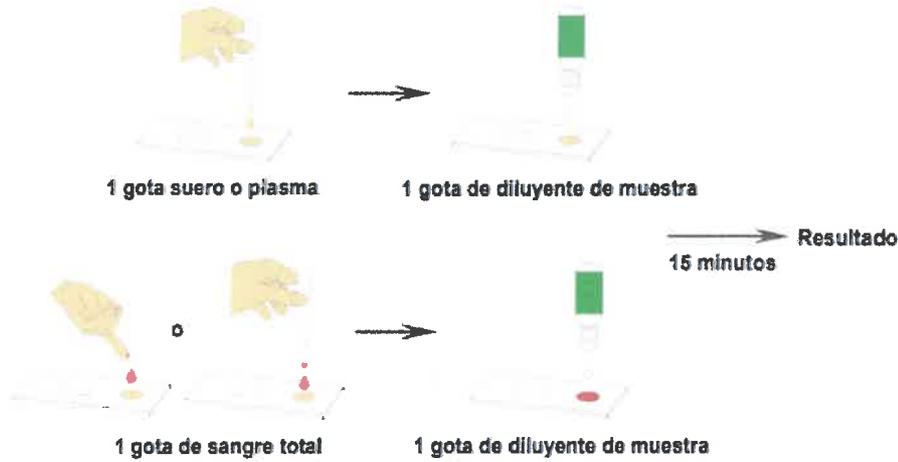
Paso 1: Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados Una vez descongelada, mezcle bien la muestra antes de realizar el ensayo.

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

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

Paso 4: Llene el gotero plástico con la muestra. Mantenga el gotero verticalmente, vierta 1 gota (de 35 a 45µL) de suero/plasma o 1 gota de sangre (de 40 a 50 µL) en la cavidad para muestras asegurándose de que no haya burbujas de aire. Luego, adicione inmediatamente 1 gota (de 35 a 50µL) de diluyente de muestra en la cavidad para las muestras.

ANEXO 3. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HEP. B



Paso 5: Programe el cronómetro.

Paso 6: Los resultados pueden leerse en el transcurso de 15 minutos.

NOTA: Los resultados positivos son visibles en un tiempo de 1 minuto. No realice la lectura del resultado después de 15 minutos. Para evitar confusiones, deseche el dispositivo de prueba después de interpretar su resultado.

Interpretación de los resultados

Interpretación		
Negativo	Positivo	Invalido
Si solo aparece la banda C, la prueba indica que no hay presencia de anticuerpo detectable para H. pylori en la muestra. En este caso el resultado es negativo.	Si aparecen las bandas C y T, la prueba indica que hay presencia de anticuerpo para H. pylori en la muestra. En este caso el resultado es positivo.	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. El análisis se debe repetir con un nuevo dispositivo.
	 	 

ANTICUERPOS; HELICOBACTER PYLORI

Significado Clínico

La bacteria *Helicobacter pylori* se asocia con una variedad de enfermedades gastrointestinales incluyendo dispepsia no ulcerosa, úlceras duodenales y gástricas, y gastritis crónica. La prevalencia de la infección por *H. pylori* podría superar el 90% en pacientes con signos y síntomas de enfermedades gastrointestinales. Estudios recientes indican una asociación de la infección por *H. pylori* con cáncer estomacal.



La bacteria *H. pylori* colonizada en el sistema gastrointestinal provoca respuestas de anticuerpos específicos lo cual ayuda en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* y en la observación en el pronóstico de tratamiento para enfermedades relacionadas con *H. pylori*. Los antibióticos en combinación con los compuestos de bismuto han demostrado ser eficaces en el tratamiento de la infección activa por *H. pylori*.

La erradicación exitosa del *H. pylori* está asociada con una mejoría clínica en pacientes con enfermedades gastrointestinales proporcionando una mayor evidencia. La prueba rápida *H. pylori* Combo Ab es inmunoensayo cromatográfico de última generación que utiliza antígenos recombinantes para detectar los anticuerpos contra *H. pylori* en suero o plasma humano. La prueba es fácil de usar, muy sensible y específica.



Principio del método

La prueba rápida *H. pylori* Ab Combo es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral en “sándwich” que permite la detección cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM, e IgA) anti-*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) en suero, plasma o muestras de sangre humanos. Se utiliza como prueba de tamizaje, y como apoyo en el diagnóstico de infecciones con *H. pylori*. Cualquier muestra reactiva con la prueba *H. pylori* Combo debe ser confirmada a través de la aplicación de métodos alternativos de ensayo y hallazgos clínicos.

Obtención y preparación de la muestra

Suero o plasma

- 
- e) **Recolección:** obtener la muestra de la manera usual
 - Aditivos:** en caso de obtener plasma, utilizar heparina, EDTA, fluoruro u oxalato de sodio como anticoagulantes.
 - Sustancias interferentes conocidas:** hemólisis o hiperlipemia pueden provocar resultados erróneos, así como el exceso de anticoagulante empleado en la obtención de plasma.
 - h) **Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** si no se procesa en el momento, el suero puede conservarse hasta 7 días en refrigerador (2 – 10°C). El plasma debe emplearse antes de las 24 horas de efectuada la extracción.

Procedimiento

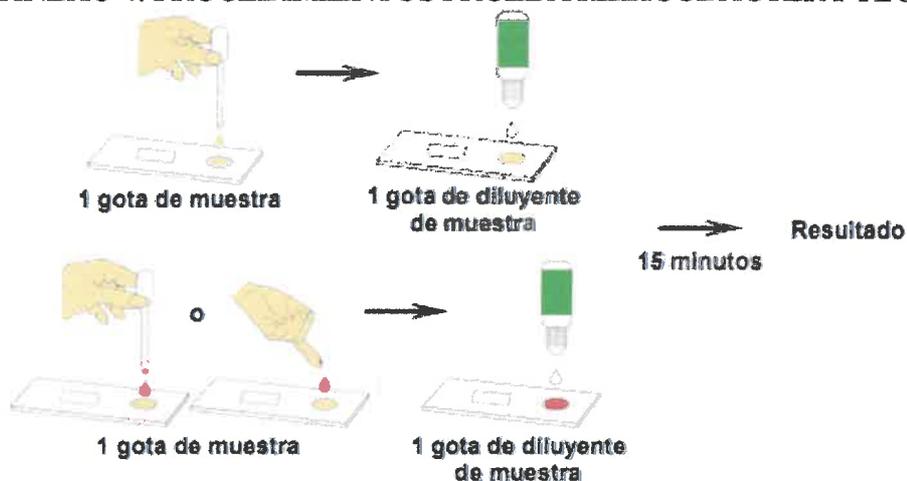
Paso 1: Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados. Una vez descongelada, mezcle bien la muestra antes de realizar el ensayo.

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

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

Paso 4: Llene el gotero plástico con la muestra. Mantenga el gotero verticalmente, vierta 1 gota (de 35 a 45 μL) de suero/plasma o 1 gota de sangre (de 40 a 50 μL) en la cavidad para muestras asegurándose de que no haya burbujas de aire. Luego, adicione inmediatamente 1 gota (de 35 a 50 μL) de diluyente de muestra en la cavidad para las muestras.

ANEXO 4. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HELICOBACTER PYLORI



Paso 5: Programe el cronómetro.

Paso 6: Los resultados pueden leerse en el transcurso de 15 minutos.

NOTA: Los resultados positivos son visibles en un tiempo de 1 minuto. No realice la lectura del resultado después de 15 minutos. Para evitar confusiones, deseche el dispositivo de prueba después de interpretar su resultado.



Interpretación de los resultados

Interpretación		
Negativo	Positivo	Invalido
Si solo aparece la banda C, la prueba indica que no hay presencia de anticuerpo detectable para H. pylori en la muestra. En este caso el resultado es negativo.	Si aparecen las bandas C y T, la prueba indica que hay presencia de anticuerpo para H. pylori en la muestra. En este caso el resultado es positivo.	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. El análisis se debe repetir con un nuevo dispositivo.
	 	 



DETECCIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS C POR INMUNOCROMATOGRAFÍA EN SANGRE TOTAL, PLASMA Y/O SUERO

Significado Clínico

El virus de la Hepatitis C (VHC), ha sido descrita como una forma transmitida parenteralmente de hepatitis no-A, no-B (NANBH), la cual se convierte en una enfermedad crónica en el 50% de los casos. El VHC también puede transmitirse por el uso de drogas de abuso intravenosas y contacto sexual. El virus de la hepatitis C se compone de una cadena simple de ARN con algunas relaciones estructurales con la familia del flavivirus. Las secuencias de ácido nucleico de los clones de ADNc del VHC proporcionan la base para la construcción de los péptidos recombinantes que representan las proteínas de virus de hepatitis C putativo.

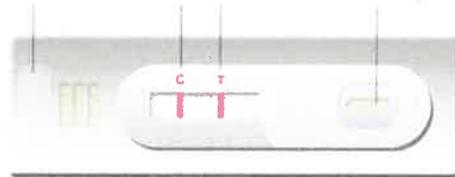
La detección de anticuerpos del virus anti-hepatitis C en la sangre utilizando proteínas recombinantes o sintéticos, ayudó a identificar a los donantes de sangre aparentemente sanos con anticuerpos anti-HCV que de otra manera podría haber transmitido el virus.

Por lo tanto, La prueba rápida HCV Ab Plus es una herramienta útil para la detección de seguridad de los bancos de sangre. La prueba rápida HCV Ab Plus es desarrollada para la detección de anticuerpos incluyendo IgG, IgM e IgA contra el virus de la Hepatitis C en suero o plasma humana. La prueba se puede usar por trabajadores de la salud con una capacitación mínima y sin equipos de laboratorio.

Principio del método

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

Identificación de la muestra Banda de Línea de Control Pozo de muestra



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

en la línea T, indicando un resultado positivo de la prueba o reactiva para VHC Ab. La ausencia de color en la banda T sugiere un resultado negativo de la prueba.

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

Obtención y preparación de la muestra

Suero o plasma

- i) Recolección: obtener la muestra de la manera usual
- j) Aditivos: en caso de obtener plasma, utilizar heparina, EDTA, fluoruro u oxalato de sodio como anticoagulantes.
- k) Sustancias interferentes conocidas: hemólisis o hiperlipemia pueden provocar resultados erróneos, así como el exceso de anticoagulante empleado en la obtención de plasma.
- l) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si no se procesa en el momento, el suero puede conservarse hasta 7 días en refrigerador (2 – 10°C). El plasma debe emplearse antes de las 24 horas de efectuada la extracción.

Procedimiento

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

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

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

Paso 4: Llene el gotero plástico con la muestra. Mantenga el gotero verticalmente, vierta 1 gota (de 35 a 45µL) de suero/plasma en la cavidad para muestras asegurándose de que no haya burbujas de aire. Luego, adicione inmediatamente 1 gota (de 35 a 50µL) de diluyente de muestra en la cavidad para las muestras.

ANEXO 5. PROCEDIMIENTOS HEP. C



Paso 5: Programe el cronómetro.

Paso 6: Los resultados pueden leerse en el transcurso de 15 minutos.

NOTA: Los resultados positivos son visibles en un tiempo de 1 minuto. No realice la lectura del resultado después de 15 minutos. Para evitar confusiones, deseche el dispositivo de prueba después de interpretar su resultado.

Interpretación de los resultados

Interpretación		
Negativo	Positivo	Invalido
<p>Solo si se visualiza la banda C coloreada, y hay ausencia de color en la banda T indica que no hay presencia de anticuerpos anti-HVC en la muestra. El resultado es No-reactivo</p>	<p>Ambas bandas C y T desarrollan color, la prueba indica la presencia de anticuerpos contra el VHC en la muestra. El resultado es reactivo.</p> <p><i>* Las muestras con resultados reactivos deben ser confirmados con métodos alternativos y junto con la sintomatología clínica antes de hacer una determinación como positiva.</i></p>	<p>Si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras bandas se tiñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.</p>
	 	 



ANTIESTREPTOLISINA O; TÍTULO

Significado Clínico

La estreptolisina O es una exoenzima inmunogénico tóxico producido por estreptococos β -hemolíticos de los grupos A, C y G. La cuantificación de los anticuerpos ASO se utiliza para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades como las fiebres reumáticas, glomerulonefritis aguda, y otras infecciones estreptocócicas. Las fiebres reumáticas es una enfermedad inflamatoria que afecta al tejido conectivo de diversas zonas del cuerpo humano (piel, corazón, articulaciones, etc.) y la glomerulonefritis aguda es una inflamación del riñón que afecta principalmente a los glomerulos renales.

Principio del método

El ASO Látex es una técnica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de anti-estreptolisina O (ASO) en suero humano. Las partículas de látex recubiertas con estreptolisina O (SLO) son aglutinadas por anticuerpos ASO presentes en la muestra del paciente.

Obtención y preparación de la muestra

Suero o plasma

- m) Recolección: obtener la muestra de la manera usual
- n) Aditivos: en caso de obtener plasma, utilizar heparina, EDTA, fluoruro u oxalato de sodio como anticoagulantes.
- o) Sustancias interferentes conocidas: hemólisis o hiperlipemia pueden provocar resultados erróneos, así como el exceso de anticoagulante empleado en la obtención de plasma.
- p) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si no se procesa en el momento, el suero puede conservarse hasta 7 días en refrigerador (2 – 10°C). El plasma debe emplearse antes de las 24 horas de efectuada la extracción.

Procedimiento

a. METODOLOGÍA CUALITATIVA

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50 μ L de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de una porta.
3. Mezclar el reactivo de ASO-Látex vigorosamente o con el agitador vórtex antes de usar. Depositar una gota (50 μ L) junto a cada una de las gotas anteriores.
4. Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.
5. Situar el porta sobre un agitador rotatorio a 80 – 100 r.p.m. y agitar durante 2 minutos. El exceso de tiempo puede originar la aparición de falsos positivos.

Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador. La presencia de aglutinación indica una concentración de ASO igual o superior a 200 UI/mL.



b. METODOLOGÍA SEMI CUANTITATIVA

6. Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina 9 g/L.
7. Proceder para cada dilución, como en la prueba cualitativa.
8. En el método semicuantitativo, se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

Interpretación de los resultados

Muestra	Rangos
Suero	Hasta 200 UI/mL (adultos) y 100 UI/mL (niños < 5 años) * La concentración aproximada de ASO en la muestra del paciente se obtiene aplicando la siguiente fórmula: $200 \times \text{Título de ASO} = \text{UI/mL}$





ANTICUERPO CONTRA; DENGUE

Significado Clínico

Los virus del Dengue, una familia con distintos serotipos de (Den 1,2,3,4), de cadena simple, envuelto, de los virus de ARN positivos. Los virus son transmitidos por picadura en el día, la familia Stegemyia, principalmente el Aedes aegypti, y Aedes albopictus. Hoy, más de 2.5 billones de personas que viven en áreas tropicales de Asia, Africa, Australia, y las Americas están en riesgo de infectarse por Dengue. Se estima que 100 millones de casos de fiebre del dengue y 250,000 casos de dengue hemorrágico mortal ocurren anualmente en el mundo 1-3 .

La detección serológica es el método más común para el diagnóstico de la infección con el virus del Dengue. La IgM anti-dengue aparece 3 días después de la exposición inicial y permanece en circulación por aproximadamente 30-60 días. Los niveles de IgG anti-dengue virus aumentan a los 7 días, alcanzan su pico de 2-3 semanas, y permanecen toda la vida 4-6. La prueba rápida OnSite Dengue IgG/IgM3.0 Combo utiliza proteínas recombinantes del dengue las cuales reconocen los anticuerpos IgG e IgM de los cuatro serotipos del virus. La prueba es fácil de usar, sin necesidad.

Principio del método

La prueba rápida Dengue IgG/IgM es un inmunoensayo de cromatografía de flujo lateral el cual detecta anticuerpos contra los cuatro serotipos del virus del Dengue. La prueba de casete consiste en:

- 1) una almohadilla de conjugado de color borgoña que contiene antígenos de la envoltura del dengue recombinante conjugado con oro coloidal (conjugados dengue) y conjugados de IgG-oro de conejo
- 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene anti IgG humano, banda M está revestida con IgM anti-humano, y la banda C previamente recubiertas con anticuerpo de cabra anti IgG de conejo. Cuando un volumen adecuado de muestra es dispensada en el pozo de muestra del casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si la IgG anti-dengue está presente, se unirá con los conjugados del dengue.

El inmunocomplejo es capturado por la banda con anti IgG humana, formando una coloración borgoña indicando presencia de IgG contra el dengue positiva, resultado de un resultado que sugiere una infección de dengue secundaria o infección por Dengue anterior. La IgM anti-dengue, si está presente en la muestra, se une con los conjugados del dengue. El inmunocomplejo es capturado por la banda con anti IgM humana, formando una banda color borgoña en la línea M, indicando una IgM positiva contra el dengue, resultado de una infección primaria reciente. Si se colorea la banda G y la M, los resultados sugieren que se trata de una infección primaria y secundaria con el virus del Dengue. La ausencia de las bandas (G y M) sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (banda C), la cual muestra una coloración borgoña por la formación de un inmunocomplejo de cabra anti IgG de conejo / conjugado IgG-oro de conejo, independientemente del desarrollo de color en cualquiera de las bandas de

prueba (G y M). De lo contrario, el resultado de la prueba no es válida y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

Obtención y preparación de la muestra

Suero o plasma

- q) Recolección: obtener la muestra de la manera usual
- r) Aditivos: en caso de obtener plasma, utilizar heparina, EDTA, fluoruro u oxalato de sodio como anticoagulantes.
- s) Sustancias interferentes conocidas: hemólisis o hiperlipemia pueden provocar resultados erróneos, así como el exceso de anticoagulante empleado en la obtención de plasma.
- t) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si no se procesa en el momento, el suero puede conservarse hasta 7 días en refrigerador (2 – 10°C). El plasma debe emplearse antes de las 24 horas de efectuada la extracción.

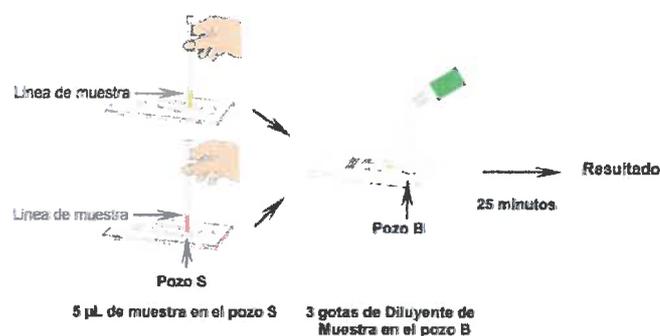
Procedimiento

1. Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados. Una vez descongelada, mezcle bien la muestra antes de realizar el análisis.
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.
4. Llene el tubo capilar con el suero, plasma o sangre, no exceda la línea de muestra como se muestra en la imagen. El volumen es aprox 5µL. Para mayor precisión, transfiera la muestra con una pipeta que de exacto el volumen.

Con el tubo capilar en posición vertical, dispense la muestra en el centro del pozo de muestra (pozo S) asegurándose de que no hayan burbujas de aire. Inmediatamente agregar 3 gotas (aprox. 110-130 µL) de Diluyente de Muestra en el pozo de Buffer (pozo B).

5. Contabilice el tiempo. Lea los resultados en 25 minutos.

No lea los resultados después de 25 minutos. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.



Interpretación de los resultados

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

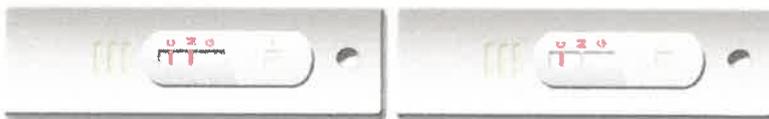


- 2. RESULTADO POSITIVO:** Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda G, el resultado indica la presencia de IgG anti-dengue; el resultado es IgG positiva o reactiva, sugiriendo etapa primaria tardía, secundaria o principios de la infección.

- 2.1 Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda G, el resultado indica la presencia de IgG anti-dengue; el resultado es IgG positiva o reactiva, sugiriendo etapa primaria tardía, secundaria o principios de la infección.



- 2.2 Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda M, el resultado indica la presencia de IgM anti-dengue; el resultado es IgM positiva o reactiva, sugiriendo una infección primaria por el virus del dengue.

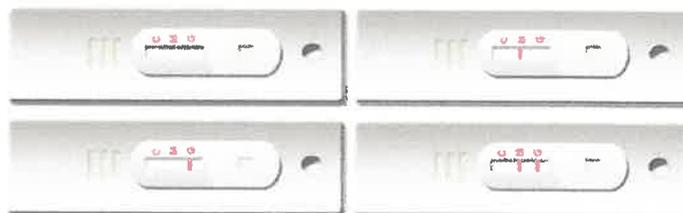


- 2.3 Además de la presencia de la banda C, tanto la banda G como la M se colorean, la prueba indica la presencia de IgG e IgM anti-dengue. El resultado es IgG e IgM positiva o reactiva, señalando una infección por el virus del dengue primaria o secundaria temprana.



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

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



DOSAJE DE ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO (PSA); COMPLEJOS (MEDICIÓN DIRECTA)

Significado Clínico

El antígeno PSA es una proteasa sérica con un peso molecular de aproximadamente 34.000 daltons que contiene 7% de hidratos de carbono en peso. Este antígeno es inmunológicamente específico para el tejido prostático, existente en normal, hiperplasia benigna, en tejidos malignos de próstata, carcinoma de próstata metastásico, en el líquido de la próstata y en el plasma seminal.

El antígeno PSA no se presenta en los otros tejidos normales. La concentración sérica de PSA en hombres sanos es de 0,1 ng/mL y 2,6 ng/mL. Se han informado niveles elevados de PSA en pacientes con cáncer de próstata, hipertrofia benigna de la próstata, o inflamación de otros tejidos adyacentes genitourinarios, pero no en hombres aparentemente sanos, hombres con carcinoma no-prostático, mujeres aparentemente sanas, o mujeres con cáncer. Los estudios sugieren que los niveles séricos de PSA son uno de los marcadores tumorales más útiles en oncología. Un nivel de PSA de 4 a 10 ng/ml se considera que se encuentra en la "zona gris" y los niveles por encima de 10 ng/ml son altamente indicativos de cáncer de próstata.

Los pacientes con valores de PSA entre 4-10 ng/ml deben someterse a un mayor número de análisis de la próstata mediante biopsia. Los niveles de PSA pueden mejorar la detección temprana de cáncer de próstata al combinarse con el tacto rectal (DRE). Pueden también usarse como un marcador preciso para evaluar la respuesta al tratamiento del cáncer de próstata. Por lo tanto, la medición de la concentración de PSA puede ser una herramienta importante en el seguimiento de pacientes con cáncer de próstata y en la determinación de la efectividad potencial y real de la cirugía u otras terapias. La prueba rápida PSA (suero / plasma / sangre) utiliza un par de anticuerpos policlonales anti-PSA y anticuerpo monoclonal conjugado con oro coloidal anti-PSA para detectar selectivamente los niveles de PSA totales en sangre total, suero o plasma. La prueba tiene un valor de corte de 4 ng/ml y un valor de referencia de 10 ng/mL para facilitar la interpretación de los resultados del ensayo.

Principio del método

La prueba rápida PSA es un inmunoensayo de flujo lateral que permite la detección semi cuantitativa de antígeno prostático específico (PSA) en sangre entera, suero o plasma humanos a un nivel límite de 4 ng/mL. Se usa como una prueba de tamizaje y como ayuda en el diagnóstico de cáncer de próstata. Cualquier muestra reactiva con la prueba rápida PSA debe ser confirmada con métodos de ensayo alternativos y hallazgos clínicos.

Obtención y preparación de la muestra

Suero o plasma

- Recolección: obtener la muestra de la manera usual
- Aditivos: en caso de obtener plasma, utilizar heparina, EDTA, fluoruro u oxalato de sodio como anticoagulantes.

- c) Sustancias interferentes conocidas: hemólisis o hiperlipemia pueden provocar resultados erróneos, así como el exceso de anticoagulante empleado en la obtención de plasma.
- d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si no se procesa en el momento, el suero puede conservarse hasta 7 días en refrigerador (2 – 10°C). El plasma debe emplearse antes de las 24 horas de efectuada la extracción.

Procedimiento

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

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

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

Paso 4: Aplique 2 gotas de sangre (alrededor de 80-100 μL) o una gota de suero (alrededor de 30-45 μL) en el pozo para muestras. Luego adicione inmediatamente una gota (alrededor de 35 – 50 μL) de diluyente de muestra.

ANEXO 6. PROCEDIMIENTOS PRUEBA PSA

Para prueba en sangre total:



Para prueba en suero:



Paso 5: Programe el cronómetro.

Paso 6: Los resultados pueden leerse en el transcurso de 15 minutos.

NOTA: Los resultados positivos son visibles en un tiempo de 1 minuto. No realice la lectura del resultado después de 15 minutos. Para evitar confusiones, deseche el dispositivo de prueba después de interpretar su resultado.

Interpretación de los resultados

Interpretación		
Negativo	Positivo	Invalido
<p>Si sólo aparecen las bandas C y R, la prueba indica que en la muestra no se presenta PSA o que su nivel es menor al valor límite de 4 ng/mL. En este caso el resultado es negativo.</p>	<p>Si todas las bandas C, R y T aparecen, y la línea de prueba (T) es más débil que la línea de referencia (R), la prueba indica que el nivel de PSA se encuentra entre 4 a 10ng/mL, lo cual indica que el resultado es positivo.</p>	<p>Si la línea control (C) o la línea de referencia (R) no se muestran, el ensayo es inválido sin importar que se haya creado una línea de color en la banda T como se muestra a continuación. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.</p>
		



METABOLITO COCAINA EN ORINA

Significado clínico

Derivado de hojas de la planta de coca, la cocaína es un potente estimulante del sistema nervioso central y un anestésico local. La cocaína se excreta en la orina principalmente como benzoilecgonina en un corto período de tiempo. Benzoilecgonina tiene una vida biológica media de 5 a 8 horas, lo cual es mucho más largo que el de cocaína (0.5 a 1.5 horas), y puede ser detectado por lo general entre 24 y 60 horas después del uso de la cocaína o la exposición. La cocaína se usa principalmente como una droga estimulante del SNC. La cocaína es a menudo autoadministrada por inhalación nasal, inyección intravenosa y base libre para fumar.

Si bien la confirmación de técnicas distintas a la GC/ MS pueden ser suficientes para algunas drogas de abuso, la GC / MS es generalmente aceptada como una vigorosa técnica de confirmación para todas las drogas, ya que proporciona el mejor nivel de confianza en el resultado.

La prueba de cocaína en cassette en orina es fácil de realizar sin necesidad de instrumentación adicional. El sistema de prueba única emplea anticuerpos monoclonales y policlonales para identificar selectivamente benzoilecgonina en muestras de orina con un alto grado de sensibilidad. Se obtiene un resultado positivo cuando el metabolito de cocaína en la orina es superior a 300 ng/ml.

Principio de la prueba

Es un inmunoensayo basado en el principio de unión competitiva. Los fármacos que pueden estar presentes en la muestra de orina pueden competir contra las drogas conjugado para sitios de unión en el anticuerpo.

Durante el ensayo, una muestra de orina migra hacia arriba por acción capilar. Si la Benzoilecgonina está presente en la muestra de orina en una concentración inferior a 300 ng / ml, no saturará los sitios de unión de anticuerpos en la tira reactiva. Las partículas recubiertas de anticuerpos serán capturadas por el conjugado inmovilizado benzoilecgonina y una línea visible de color aparecerá en la región de la línea de ensayo. La línea de color no se forma en la región de línea de prueba si el nivel de la benzoilecgonina está por encima de 300 ng/ml, ya que satura todos los sitios de unión de anticuerpos. Una muestra de orina positiva no generará una línea de color en la prueba de línea región, debido a la competencia de drogas, mientras que una muestra negativa de orina o una muestra que contiene una concentración inferior a la de corte generará una línea en la prueba. Para servir como un procedimiento de control, una línea de color aparecerá siempre en la línea de control región lo que indica que el volumen adecuado de muestra se ha añadido a la membrana y la reacción se ha producido correctamente.

Reactivos

La prueba de cassette contiene anticuerpos monoclonales de ratón anti-benzoilecgonina acoplado con partículas de benzoilecgonina conjugadas en proteínas. Un anticuerpo de cabra se emplea en la línea de control del sistema.

Obtención y Preparación de la muestra

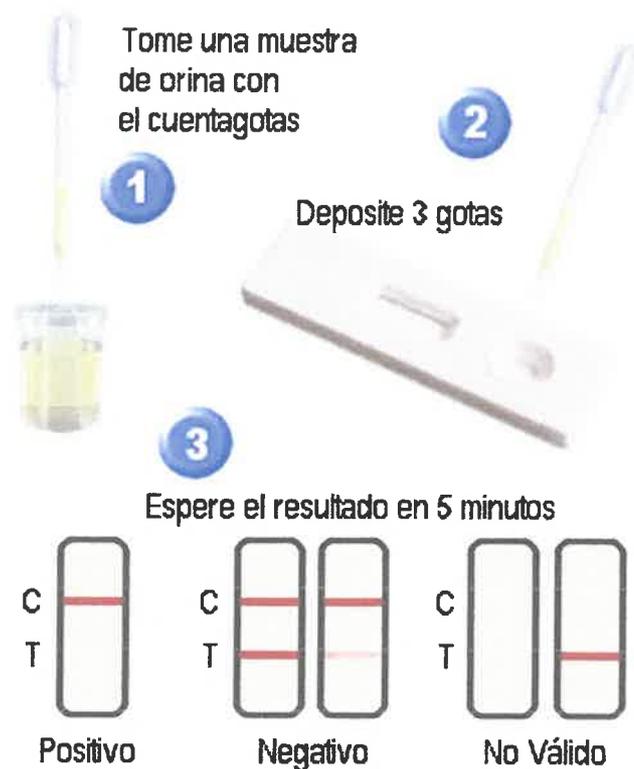
La orina debe recogerse en un recipiente limpio y seco. Pueden utilizarse muestras de orina recogidas en cualquier momento del día. Las muestras que exhiben precipitaciones visibles deben centrifugarse o filtrarse para obtener una muestra adecuada y clara para la prueba.

Las muestras de orina pueden ser almacenadas a 2 – 8 °C durante un máximo de 48 horas antes del ensayo. Para un almacenamiento prolongado, los especímenes pueden ser congelados y almacenados por debajo de -20°C. Los especímenes congelados deben ser descongelados y mezclados antes de la prueba.

Procedimiento

- 1) Abrir el envoltorio de papel de aluminio desgarrando a lo largo de la muesca y eliminar el dispositivo de prueba.
- 2) Colocar el cassette de prueba en un recipiente limpio y a nivel de la superficie. Sostener el gotero verticalmente y transferir 3 gotas de orina (aproximadamente 100ul) para la muestra así (S) del cassette de la prueba y luego iniciar el temporizador. Evitar la captura de burbujas de aire en la muestra.
- 3) Esperar a que la línea de color (S) que desea aparezca. Leer los resultados en 5 minutos. No interpretar el resultado después de 10 minutos.

ANEXO 7. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA METABOLITO COCAÍNA





Interpretación de los resultados

Resultado positivo

Una línea de color es visible en la región de la línea de control (C), pero no en la región de la línea de ensayo (T). Un resultado positivo indica que la concentración de benzoilecgonina es igual o superior a la sensibilidad de la prueba (300ng/ml).

Resultado negativo

Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región (C) de la línea de control, y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de ensayo. Este resultado negativo indica que la concentración de benzoilecgonina está por debajo del nivel detectable.

NOTA. La sombra de color en la región de línea de prueba (T) puede variar, pero debe considerarse negativo siempre que haya incluso una línea de color tenue.

Resultado no válido

La línea de control no aparece

La insuficiencia de volumen de la muestra o técnicas de procedimiento incorrecto son las causas más probables de fracaso de la línea de control. Se recomienda revisar el procedimiento y repetir la prueba utilizando una nueva prueba.

Control de calidad

Se incluye un procedimiento de control en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) se considera un procedimiento de control interno, lo cual confirma que el volumen de muestra es suficiente, la membrana de nitrocelulosa es adecuada y la técnica de procesamiento es correcta.

Limitaciones

1. Esta prueba sólo proporciona desde el punto de vista cualitativo, un resultado analítico preliminar. Se debe utilizar un segundo método de análisis para obtener un resultado confirmatorio: GC / MS y LC / MS (Cromatografía de gases – espectrometría de masas), que es el método estándar de oro.
2. Adulterantes como el polvo de blanqueo en muestras de orina pueden producir resultados erróneos independientemente del método analítico utilizado. Si se sospecha adulteración, debe repetirse la prueba con otra muestra de orina.
3. Un resultado positivo indica la presencia de drogas o sus metabolitos, pero no indica el nivel o la intoxicación, vía de administración o la concentración en la muestra de orina.
4. Un resultado negativo puede no indicar necesariamente estar libre de drogas en la orina. Esto puede obtenerse cuando se presenta benzoilecgonina, pero por debajo del valor de corte de la prueba.
5. La prueba no distingue entre las drogas y el abuso de ciertos medicamentos.

TETRAHYDROCANNABINOL THC (MARIHUANA)

Significado Clínico

El THC es el principal ingrediente activo de los cannabinoides (marihuana). Cuando se fuma o se administra por vía oral, produce efectos eufóricos. Los usuarios tienen problemas de memoria a corto plazo, se reduce el aprendizaje. También pueden experimentar episodios transitorios de confusión y ansiedad. A largo plazo, con el uso relativamente intenso puede estar asociada con trastornos del comportamiento. El efecto pico de fumar marihuana ocurre en 20 – 30 minutos y la duración es de 90 -120 minutos después de un cigarrillo. Se encuentran niveles elevados de metabolitos urinarios dentro de pocas horas de exposición y permanecen detectables por 3 – 10 días después de fumar. El principal metabolito excretado en la orina es EL 11-ni- Δ 9-tetrahidrocannabinol-9-ácido carboxílico (Δ 9-THC-COOH).

El procedimiento es fácil, se puede realizar sin el uso de instrumental adicional. La prueba utiliza un anticuerpo monoclonal para detectar selectivamente niveles elevados de Marihuana en orina. Se obtiene un resultado positivo cuando la concentración de Marihuana en la orina supera los 50 ng / ml.

Principio del método

La prueba de Marihuana (THC) en cassette es un inmunoensayo rápido de cromatografía basado en el principio de unión competitiva. Los fármacos que pueden estar presentes en la muestra de orina pueden competir contra las drogas conjugado para sitios de unión en el anticuerpo. Durante el ensayo, una muestra de orina migra hacia arriba por acción capilar. Si los metabolitos de marihuana, están presentes en la muestra de orina por debajo de 50 ng / ml, no se saturan los sitios de unión de las partículas recubiertas de anticuerpos. Las partículas recubiertas de anticuerpos serán capturadas por el conjugado inmovilizado Marihuana y una línea visible de color aparecerá en la región de línea de prueba. La línea de color no se forma en la región de línea de prueba si el nivel del metabolito Marihuana está por encima de 50 ng/ml, ya que saturan todos los sitios de unión en lucha con los anticuerpos contra Marihuana. Una muestra de orina positiva no generará una línea de color en la región de línea de prueba, debido a la competencia de drogas, mientras que una muestra negativa o que contiene una concentración inferior a la del corte generará una línea en la región de la línea de prueba. Una línea de color aparecerá siempre en la región de línea de control (procedimiento de control), lo que indica que el volumen de muestra es adecuado y la reacción en la membrana de nitrocelulosa se ha producido correctamente.

Obtención y preparación de la muestra

La orina debe recogerse en un recipiente limpio y seco. Pueden utilizarse las muestras de orina recogidas en cualquier momento del día. Las muestras que exhiben precipitaciones visibles deben centrifugarse, filtrarse para obtener una clara muestra para la prueba.

Las muestras de orina pueden ser almacenadas a 2 – 8 °C durante un máximo de 48 horas antes del ensayo. Para un almacenamiento prolongado, los especímenes pueden ser

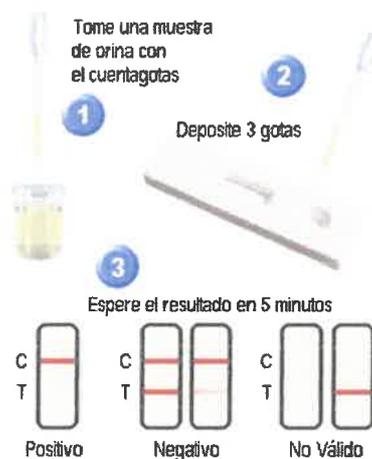


congelados y almacenados por debajo de -20°C . Los especímenes congelados deben ser descongelados y mezclados antes de la prueba.

Procedimiento

- 1) Retirar la cinta de prueba de la bolsa sellada y usarla lo antes posible.
- 2) Colocar el cassette de prueba en un recipiente limpio y a nivel de la superficie. Sostener el gotero verticalmente y transferir 3 gotas de orina (100 μl) para la muestra (S) de la prueba de cassette y a continuación, iniciar el temporizador. Evitar la formación de burbujas de aire en la muestra(S).
- 3) Esperar a que la línea roja (S) que desea ver, aparezca. El resultado debe leerse a los 5 minutos. No interpretar el resultado después de 10 minutos.

ANEXO 8. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA METABOLITO MARIHUANA (THC)



Interpretación de los resultados

Resultado positivo

Una línea de color es visible en la región de la línea de control (C), pero no en la región de la línea de ensayo (T). Un resultado positivo indica que la concentración de marihuana es igual o superior a la sensibilidad de la prueba (50ng/ml).

Resultado negativo

Aparecen dos líneas de color. Una línea de color debe estar en la región (C) de la línea de control, y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de ensayo. Este resultado negativo indica que la concentración de THC está por debajo del nivel detectable de 50 ng/ml.

NOTA. La sombra de color en la región de línea de prueba (T) puede variar, pero debe considerarse negativo siempre que haya incluso una línea de color tenue.



Resultado no válido

La línea de control no aparece.

La insuficiencia de volumen de la muestra o técnicas de procedimiento incorrecto son las causas más probables de fracaso de la línea de control. Se recomienda revisar el procedimiento y repetir la prueba utilizando una nueva prueba.

Control de calidad

Existe un procedimiento de control dentro de la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) se considera un procedimiento de control interno, lo cual confirma que el volumen de muestra es suficiente, la membrana de nitrocelulosa es adecuada y la técnica de procesamiento es correcta.



DOSAJE DE ANFETAMINA O METANFETAMINA

Significado clínico



Las anfetaminas (anfetamina, metanfetamina, y las drogas “de diseño” estructuralmente relacionadas, como “Éxtasis”) son aminas simpaticomiméticas cuyos efectos biológicos incluyen potente estimulación del sistema nervioso central, y propiedades cardiovasculares, hipertérmicas y anoréxicas. Generalmente se toman vía oral, intravenosa o fumadas. Las anfetaminas son fácilmente absorbidas desde las vías gastrointestinales para luego ser metabolizadas por el hígado y desechadas sin cambios en la orina. Las anfetaminas son metabolizadas a metabolitos sin radicales aminos (ácidos hipúrico y benzoico) e hidroxilados.

La metanfetamina es parcialmente metabolizada a anfetamina, su mayor metabolito activo. Las anfetaminas aumentan el ritmo cardiaco y la presión arterial y suprimen el apetito. Algunos estudios indican que el abuso de anfetaminas puede resultar en daños permanentes a ciertas estructuras nerviosas esenciales del cerebro. Las pruebas de detección de abuso de drogas van desde simples inmunoanálisis hasta complejos procedimientos analíticos. La rapidez y sensibilidad de los inmunoanálisis los han convertido en el método más aceptado para la detección de abuso de drogas en la orina.



Principio de la prueba

El dispositivo de prueba para la detección de drogas en un paso (Orina) es un inmunoensayo que se basa en el principio de las reacciones inmunoquímicas. Las drogas que pueden estar presentes en la muestra de orina compiten frente a los respectivos conjugados de las drogas por los puntos de unión al anticuerpo.

Durante la prueba, una muestra de orina se traslada hacia arriba por acción capilar. Si una droga se encuentra presente en la muestra de orina por debajo de su umbral de concentración, no ocupará los puntos de unión del anticuerpo específico. A continuación, el anticuerpo reaccionará con el conjugado de droga-proteína y aparecerá una línea de color visible en la zona de la línea de prueba.

La presencia de droga por encima del umbral de concentración saturará todos los puntos de unión del anticuerpo. Por lo tanto, la línea de color no se formará en la zona de la línea de prueba.

Una muestra de orina positiva no generará una línea de color en la zona de la línea de prueba debido a la competición de sustancias, mientras que una muestra negativa generará una línea en la zona de línea de prueba debido a la ausencia de competición de sustancias.

Como control del procedimiento, siempre aparecerá una línea coloreada en la zona de la línea de control. Si la línea de control no aparece, el resultado de la prueba no es válido.



Obtención y Preparación de la muestra

La orina debe recogerse en un recipiente limpio y seco. Pueden utilizarse muestras de orina recogidas en cualquier momento del día. Las muestras que exhiben precipitaciones



visibles deben centrifugarse o filtrarse para obtener una muestra adecuada y clara para la prueba.

Las muestras de orina pueden ser almacenadas a 2 – 8 °C durante un máximo de 48 horas antes del ensayo. Para un almacenamiento prolongado, los especímenes pueden ser congelados y almacenados por debajo de -20°C. Los especímenes congelados deben ser descongelados y mezclados antes de la prueba.

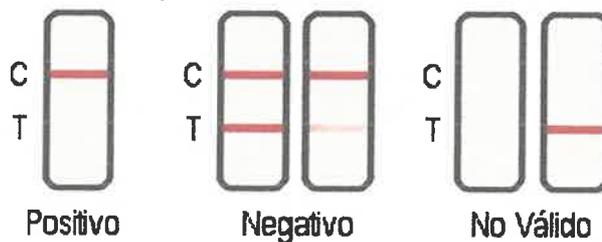
Procedimiento

- 4) Abrir el envoltorio de papel de aluminio desgarrando a lo largo de la muesca y eliminar el dispositivo de prueba.
- 5) Colocar el cassette de prueba en un recipiente limpio y a nivel de la superficie. Sostener el gotero verticalmente y transferir 3 gotas de orina (aproximadamente 100ul) para la muestra así (S) del cassette de la prueba y luego iniciar el temporizador. Evitar la captura de burbujas de aire en la muestra.
- 6) Esperar a que la línea de color (S) que desea aparezca. Leer los resultados en 5 minutos. No interpretar el resultado después de 10 minutos.

ANEXO 9. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA ANFETAMINA O METANFETAMINA



Espera el resultado en 5 minutos



Interpretación de los resultados

Resultado positivo

Una línea de color es visible en la región de la línea de control (C), pero no en la región de la línea de ensayo (T). Un resultado positivo indica que la concentración de benzoilecgonina es igual o superior a la sensibilidad de la prueba (300ng/ml).

Resultado negativo

Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región (C) de la línea de control, y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de ensayo. Este resultado negativo indica que la concentración de benzoilecgonina está por debajo del nivel detectable.

NOTA. La sombra de color en la región de línea de prueba (T) puede variar, pero debe considerarse negativo siempre que haya incluso una línea de color tenue.

Resultado no válido

La línea de control no aparece

La insuficiencia de volumen de la muestra o técnicas de procedimiento incorrecto son las causas más probables de fracaso de la línea de control. Se recomienda revisar el procedimiento y repetir la prueba utilizando una nueva prueba.

Control de calidad

Se incluye un procedimiento de control en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) se considera un procedimiento de control interno, lo cual confirma que el volumen de muestra es suficiente, la membrana de nitrocelulosa es adecuada y la técnica de procesamiento es correcta.

Limitaciones

6. Esta prueba sólo proporciona desde el punto de vista cualitativo, un resultado analítico preliminar. Se debe utilizar un segundo método de análisis para obtener un resultado confirmatorio: GC / MS y LC / MS (Cromatografía de gases – espectrometría de masas), que es el método estándar de oro.
7. Adulterantes como el polvo de blanqueo en muestras de orina pueden producir resultados erróneos independientemente del método analítico utilizado. Si se sospecha adulteración, debe repetirse la prueba con otra muestra de orina.
8. Un resultado positivo indica la presencia de drogas o sus metabolitos, pero no indica el nivel o la intoxicación, vía de administración o la concentración en la muestra de orina.
9. Un resultado negativo puede no indicar necesariamente estar libre de drogas en la orina. Esto puede obtenerse cuando se presenta benzoilecgonina, pero por debajo del valor de corte de la prueba.
10. La prueba no distingue entre las drogas y el abuso de ciertos medicamentos.

DOSAJE DE BENZODIAZEPINAS

Significado clínico

La Benzodiazepina es la droga ansiolítica de mayor uso. Se utiliza generalmente como agente para combatir la ansiedad, hipnótico, relajante muscular y anticonvulsivante. Son tomadas vía oral, o algunas veces por inyecciones. Benzodiazepina también exhibe actividades farmacológicas. Ésta y sus metabolitos son excretados en la orina. Su uso puede resultar en somnolencia y confusión.

Las Benzodiazepinas potencian los efectos del alcohol y de otros depresivos del sistema nervioso central. Pueden desarrollar dependencia psicológica y física si se suministran altas dosis de dicha droga por un tiempo prolongado. Las pruebas de detección de abuso de drogas basadas en la orina van desde simples inmunoanálisis a procedimientos analíticos complejos. La rapidez y sensibilidad de los inmunoanálisis los han convertido en el método con mayor aceptación para la detección de abuso de drogas en la orina

Principio de la prueba

El dispositivo de prueba para la detección de drogas en un paso (Orina) es un inmunoensayo que se basa en el principio de las reacciones inmunoquímicas. Las drogas que pueden estar presentes en la muestra de orina compiten frente a los respectivos conjugados de las drogas por los puntos de unión al anticuerpo.

Durante la prueba, una muestra de orina se traslada hacia arriba por acción capilar. Si una droga se encuentra presente en la muestra de orina por debajo de su umbral de concentración, no ocupará los puntos de unión del anticuerpo específico. A continuación, el anticuerpo reaccionará con el conjugado de droga-proteína y aparecerá una línea de color visible en la zona de la línea de prueba.

La presencia de droga por encima del umbral de concentración saturará todos los puntos de unión del anticuerpo. Por lo tanto, la línea de color no se formará en la zona de la línea de prueba.

Una muestra de orina positiva no generará una línea de color en la zona de la línea de prueba debido a la competición de sustancias, mientras que una muestra negativa generará una línea en la zona de línea de prueba debido a la ausencia de competición de sustancias. Como control del procedimiento, siempre aparecerá una línea coloreada en la zona de la línea de control. Si la línea de control no aparece, el resultado de la prueba no es válido.

Obtención y Preparación de la muestra

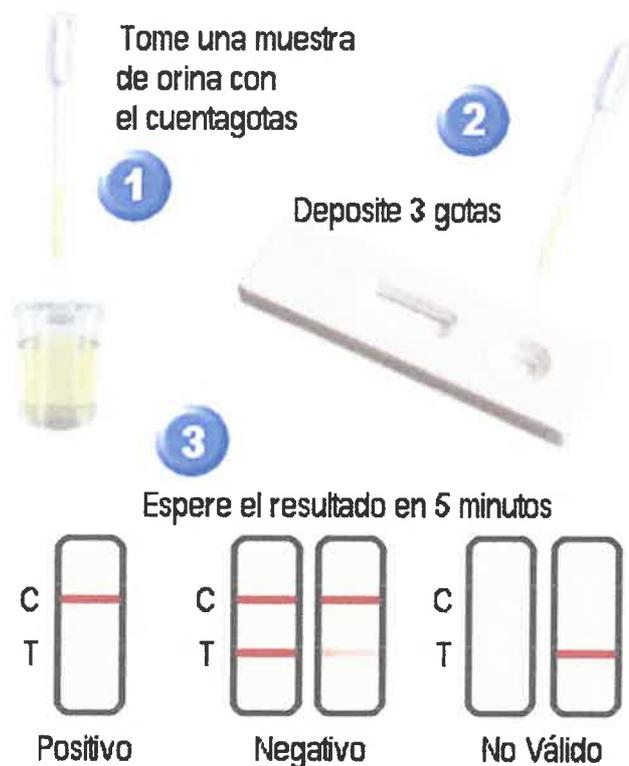
La orina debe recogerse en un recipiente limpio y seco. Pueden utilizarse muestras de orina recogidas en cualquier momento del día. Las muestras que exhiben precipitaciones visibles deben centrifugarse o filtrarse para obtener una muestra adecuada y clara para la prueba.

Las muestras de orina pueden ser almacenadas a 2 – 8 °C durante un máximo de 48 horas antes del ensayo. Para un almacenamiento prolongado, los especímenes pueden ser congelados y almacenados por debajo de -20°C. Los especímenes congelados deben ser descongelados y mezclados antes de la prueba.

Procedimiento

- 7) Abrir el envoltorio de papel de aluminio desgarrando a lo largo de la muesca y eliminar el dispositivo de prueba.
- 8) Colocar el cassette de prueba en un recipiente limpio y a nivel de la superficie. Sostener el gotero verticalmente y transferir 3 gotas de orina (aproximadamente 100ul) para la muestra así (S) del cassette de la prueba y luego iniciar el temporizador. Evitar la captura de burbujas de aire en la muestra.
- 9) Esperar a que la línea de color (S) que desea aparezca. Leer los resultados en 5 minutos. No interpretar el resultado después de 10 minutos.

ANEXO 10. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA BENZODIAZEPINA



Interpretación de los resultados

Resultado positivo

Una línea de color es visible en la región de la línea de control (C), pero no en la región de la línea de ensayo (T). Un resultado positivo indica que la concentración de benzoilecgonina es igual o superior a la sensibilidad de la prueba (300ng/ml).

Resultado negativo

Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región (C) de la línea de control, y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de ensayo.

Este resultado negativo indica que la concentración de benzoilecgonina está por debajo del nivel detectable.

NOTA. La sombra de color en la región de línea de prueba (T) puede variar, pero debe considerarse negativo siempre que haya incluso una línea de color tenue.

Resultado no válido

La línea de control no aparece

La insuficiencia de volumen de la muestra o técnicas de procedimiento incorrecto son las causas más probables de fracaso de la línea de control. Se recomienda revisar el procedimiento y repetir la prueba utilizando una nueva prueba.

Control de calidad

Se incluye un procedimiento de control en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) se considera un procedimiento de control interno, lo cual confirma que el volumen de muestra es suficiente, la membrana de nitrocelulosa es adecuada y la técnica de procesamiento es correcta.

Limitaciones

11. Esta prueba sólo proporciona desde el punto de vista cualitativo, un resultado analítico preliminar. Se debe utilizar un segundo método de análisis para obtener un resultado confirmatorio: GC / MS y LC / MS (Cromatografía de gases – espectrometría de masas), que es el método estándar de oro.
12. Adulterantes como el polvo de blanqueo en muestras de orina pueden producir resultados erróneos independientemente del método analítico utilizado. Si se sospecha adulteración, debe repetirse la prueba con otra muestra de orina.
13. Un resultado positivo indica la presencia de drogas o sus metabolitos, pero no indica el nivel o la intoxicación, vía de administración o la concentración en la muestra de orina.
14. Un resultado negativo puede no indicar necesariamente estar libre de drogas en la orina. Esto puede obtenerse cuando se presenta benzoilecgonina, pero por debajo del valor de corte de la prueba.
15. La prueba no distingue entre las drogas y el abuso de ciertos medicamentos.





DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE AGENTES INFECCIOSOS MEDIANTE TÉCNICA DE ENSAYO INMUNOCROMATOGRÁFICO; PRUEBA RÁPIDA; CORONAVIRUS DEL SÍNDROME RESPIRATORIO AGUDO SEVERO (P. EJ., SARS-COV, SARS-COV-2 (ENFERMEDAD POR CORONAVIRUS [COVID-19])

Significado Clínico

La prueba rápida de antígeno COVID-19 es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de antígenos del SARS-CoV-2 en muestras de hisopados nasofaríngeos de individuos con sospecha de infección por SARS-CoV-2 junto con la presentación clínica y los resultados de otras pruebas de laboratorio. Los resultados corresponden a la detección de antígenos del SARS-CoV-2.

Generalmente, un antígeno es detectable en muestras de las vías respiratorias superiores durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos indican la presencia de antígenos virales, pero es necesaria una correlación clínica con el historial del paciente y otra información de diagnóstico para determinar el estado de la infección. Los resultados positivos no descartan infección bacteriana o coinfección con otros virus. Es posible que el agente detectado no sea la causa definitiva de la enfermedad. Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2 y no deben usarse como la única base para el tratamiento o las decisiones de manejo del paciente.

Los resultados negativos deben tratarse como presuntivos y confirmarse con un ensayo molecular, si es necesario para el tratamiento del paciente. Los resultados negativos deben considerarse en el contexto de las exposiciones recientes de un paciente, el historial y la presencia de signos y síntomas clínicos compatibles con COVID-19. La prueba rápida de antígeno COVID-19 está diseñada para que la utilice personal de laboratorio clínico capacitado.

Los nuevos coronavirus pertenecen al género β . COVID-19 es una enfermedad infecciosa respiratoria aguda. Las personas generalmente son susceptibles. Actualmente, los pacientes infectados por el nuevo coronavirus son la principal fuente de infección; Las personas infectadas asintomáticas también pueden ser una fuente infecciosa. Las principales manifestaciones incluyen fiebre, fatiga y tos seca. En algunos casos se encuentran congestión nasal, secreción nasal, dolor de garganta, mialgia y diarrea.

Principio del método

La prueba rápida de antígeno COVID-19 (hisopado nasofaríngeo) es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección de antígenos del SARS-CoV-2 en una muestra de torunda nasofaríngea humana. El anticuerpo SARS-CoV-2 se recubre en la región de la línea de prueba.

Durante la prueba, la muestra reacciona con partículas recubiertas de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en la prueba. Luego, la mezcla migra hacia arriba en la membrana por acción capilar y reacciona con el anticuerpo SARS-CoV-2 en la región de la línea de

prueba. Si la muestra contiene antígenos del SARS-CoV-2, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba como resultado de esto. Si la muestra no contiene antígenos del SARS-CoV-2, no aparecerá ninguna línea de color en la región de la línea de prueba, lo que indica un resultado negativo.

Para que sirva como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control, lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y se ha producido la absorción de la membrana.

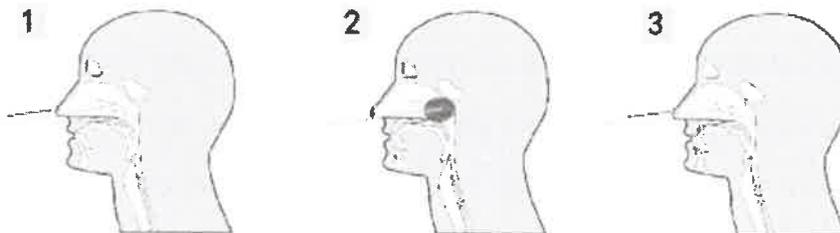
Obtención y preparación de la muestra

-Hisopado nasofaríngeo

Toma de muestra:

1. El paciente debe tener el cubrebocas durante el proceso de la toma de muestra. Inserte un hisopo estéril en la fosa nasal del paciente, hasta llegar a la superficie de la nasofaringe posterior.
2. Frote sobre la superficie de la nasofaringe posterior. (Rotación por 5 o 6 veces)
3. Retire el hisopo estéril de la cavidad nasal.

ANEXO 11. PROCEDIMIENTO PARA EL HISOPADO NASOFARINGEO



Transporte y almacenamiento de muestras

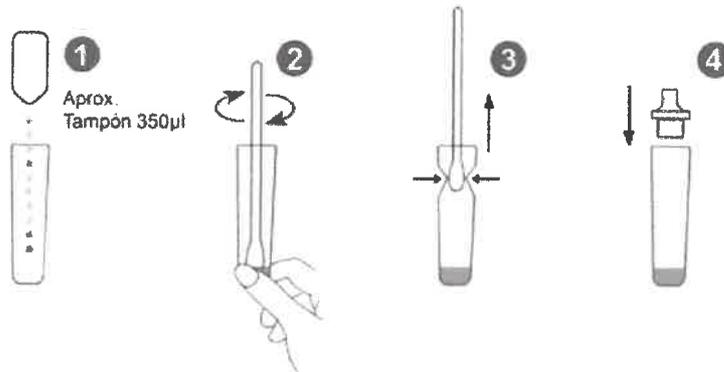
1. Las muestras deben analizarse lo antes posible después de la recolección.
2. Si los hisopos no se procesan inmediatamente, se recomienda encarecidamente que la muestra del hisopo se coloque en un tubo de plástico seco, estéril y bien sellado para su almacenamiento.
3. La muestra de hisopo en estado seco y estéril es estable hasta 8 horas a temperatura ambiente y 24 horas a 2-8 °C.



Preparación de materiales y muestra (con tampón de extracción con tubo de extracción no integrado)

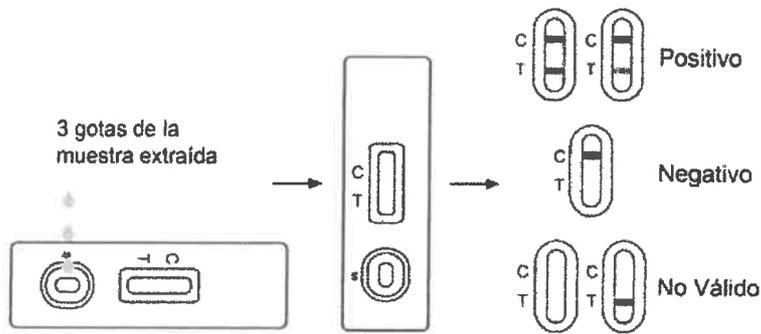
1. Coloque el tubo de extracción en la estación de trabajo. Añada aproximadamente 350µl tampón de extracción al tubo de extracción.
2. Coloque la muestra del hisopo en el tubo de extracción. Gire el bastoncillo durante aproximadamente 10 segundos mientras presiona el cabezal contra el interior del tubo para liberar el antígeno del bastoncillo.
3. Retire la torunda mientras presiona el cabezal de la torunda contra el interior del Tubo de extracción mientras la retira para expulsar la mayor cantidad de líquido posible de la torunda.
4. Coloque la punta del gotero en la parte superior del tubo de extracción.

ANEXO 12. PREPARACIÓN DE MATERIAL PARA HISOPADO NASOFARINGEO



Procedimiento

1. Retire el casete de prueba de la bolsa de aluminio sellada y utilícelo dentro de una hora. Se obtendrán mejores resultados si la prueba se realiza inmediatamente después de abrir la bolsa de aluminio.
2. Invierta el tubo de recolección de muestras y agregue 3 gotas de la muestra extraída (aproximadamente 100µl) al pocillo de la muestra (S) y luego inicie el temporizador.
3. Espere a que aparezcan las líneas de color. Lea el resultado a los 15 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



Interpretación de los resultados

Interpretación		
Negativo	Positivo	Invalido
<p>Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea de color aparente en la región de la línea de prueba (T).</p>	<p>Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color debe estar en la región de prueba (T). El resultado positivo en la región de prueba indica la detección de antígenos COVID-19 en la muestra.</p> <p>NOTA: La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará según la cantidad de antígeno COVID-19 presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de prueba (T) debe considerarse positivo.</p>	<p>La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor.</p>
		



DOSAJE DE PROLACTINA

Significado Clínico



La Hormona Prolactina (PRL), secretada por los lactótrofos de la pituitaria anterior, es una proteína formada por una cadena sencilla de polipéptidos que contienen aproximadamente 200 aminoácidos. La acción biológica esencial de la hormona está sobre la glándula mamaria en donde participa en el desarrollo de la mencionada glándula y en la inducción y mantenimiento de producción de leche; existen evidencias que permiten sugerir que la prolactina puede participar en la esteroidogénesis en las gónadas, actuando sinérgicamente con la hormona luteinizante (LH). Los altos niveles de prolactina parece que inhiben la esteroidogénesis al igual que inhiben la LH y la síntesis de la hormona Estimulante del Folículo (FSH) en la glándula pituitaria.

La utilidad clínica de la medición de la hormona Prolactina (PRL) en la evaluación del diagnóstico de hiperprolactinemia y para el posterior monitoreo de la efectividad del tratamiento ha sido establecido perfectamente.



En este método, el calibrador PRL, el control o la muestra del paciente se adiciona en primer término a un pozo recubierto de Streptavidina. Los anticuerpos monoclonales marcados con biotina y con enzimas (dirigidos a epítopes claramente diferenciados de PRL) son adicionados y luego son mezclados sus reactantes. La reacción entre varios anticuerpos PRL y PRL nativos forman un complejo en sándwich que se unen con la estreptavidina que cubre el pozo.

Después de completarse el periodo requerido de incubación, el anticuerpo conjugado con enzima para la hormona Prolactina se separará de las que no han sido unidas al conjugado de la hormona enzima- prolactina por aspiración o decantación. La actividad del enzima presente en la superficie del pozo se cuantifica mediante reacción con un sustrato adecuado para producir luz.

El empleo de varias referencias de suero de niveles conocidos de la hormona Prolactina permitirá la construcción de una curva dosis-respuesta de actividad y concentración. A partir de la comparación de la curva de dosis-respuesta, se puede correlacionar la actividad de una muestra desconocida con la concentración de la Hormona Prolactina.

Principio del método

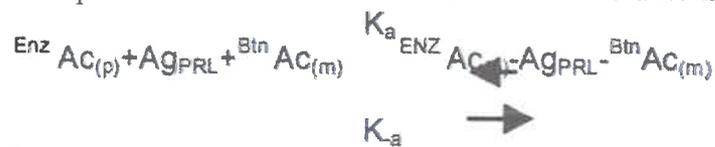
Ensayo inmunoenzimométrico



Los reactivos esenciales requeridos para un ensayo inmunoenzimométrico incluyen alta afinidad y especificidad en los anticuerpos (marcado con enzima e inmovilizados), con reconocimiento de diferentes epítopes, en exceso y antígenos nativos. En este procedimiento, la inmovilización tiene lugar durante el ensayo sobre la superficie del pozo mediante la interacción de la estreptavidina recubierta en el pozo y el anticuerpo monoclonal anti-PRL marcado con biotina agregado exógenamente.

Al mezclar el anticuerpo monoclonal marcado con biotina, el anticuerpo marcado con enzima y el suero que contiene el antígeno nativo, dan lugar a una reacción entre el

antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia u obstáculo estérico, para formar un complejo soluble tipo sándwich. La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:



Btn Ac(m) Anticuerpo monoclonal Marcado con biotina (cantidad en exceso)

AgPRL = Antígeno nativo (cantidad variable)

ENZ Ab(p)= Anticuerpo marcado con Enzima (Cantidad en exceso)

Enz Ac (p) -AgPRL. - Btn Ac(m)=Complejo en sándwich antígeno- anticuerpo

Ka = Tasa Constante de Asociación

k-a = Tasa Constante de Disociación

Simultáneamente el complejo se deposita en el pozo a través de la alta afinidad de reacción entre la estreptavidina y el anticuerpo marcado con biotina. Esta interacción se ilustra a continuación.



Estreptavidina CW = estreptavidina inmovilizada en el pozo. Complejo inmovilizado= complejo en sándwich enlazado al pozo.

Luego de un periodo adecuado, el anticuerpo enlazado a la fracción es separado del antígeno no enlazado por decantación o aspiración. La actividad enzimática determinada por la reacción con el sustrato que genera luz, el anticuerpo enlazado a la fracción será directamente proporcional a la concentración relativa del antígeno. Al Utilizar varias referencias de suero de valores conocidos del antígeno, se puede generar una curva dosis-respuesta a partir de la cual se evalúa la concentración de antígeno de una muestra desconocida.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

Preparación de los reactivos

1. **Buffer de Lavado:** Diluir la solución de lavado concentrada, con agua destilada hasta un volumen de 1000 ml. Almacenar a temperatura ambiente 20-27 ° C.
2. **Solución de trabajo:** Conservar a 2-8 ° C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando partes iguales de reactivo señal A y reactivo señal B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir

1 ml de A y 1ml de B para tener un total de 2 ml lo cual es suficiente para 2 tiras de 8 pozos (se debe preparar con un ligero exceso). Deseche la porción no utilizada si no se usa dentro de 36 horas después de la mezcla. Si se prevé la utilización completa de los reactivos entonces, verter el contenido del reactivo señal B en el frasco conteniendo el reactivo señal A.

Procesamiento manual:

1. Preparar todas las muestras de acuerdo al “procedimiento de extracción de muestras” en la sección 8.0 Preparación de reactivos.
2. Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado. NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C.
3. Pipetee 0.05 ml del calibrador de suero de referencia apropiado, muestra diluida o control en los pocillos asignados.
4. Añada 0,100 ml de reactivo trazador a cada pocillo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cerca del pozo. Mover suavemente la placa por 20 o 30 segundos para mezclar.
5. Incubar por 45 min en campo oscuro.
6. Agregar 0.350 ml (350 µl) de buffer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una pizeta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la solución de lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.
7. Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo señal de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo.

Interpretación de los resultados

Población	ng / ml
Mujeres	Adulto (Número =70) 1.2- 19.5 Postmenopausia (Número = 10) 1.5 – 18.5
Hombres	1.8 – 17.0

TIROXINA; LIBRE

Significado Clínico

La tiroxina, principal hormona de la tiroides, circula en sangre unida casi totalmente a proteínas portadoras. El principal portador es la globulina enlazada a la tiroxina (TBG). Sin embargo, solo la porción libre (no enlazada) de la tiroxina responsable de la acción biológica; además, las concentraciones de las proteínas portadoras se alteran en muchas condiciones clínicas, tales como embarazo. De acuerdo con el funcionamiento normal de la tiroides, en la medida en que las concentraciones de las proteínas portadoras se alteren, el nivel total de tiroxina cambiara de tal suerte que permanezca constante la concentración de tiroxina libre. De esta manera, las mediciones de concentraciones de tiroxina libre se correlacionan mejor con la condición clínica que con los niveles totales de tiroxina.

El incremento de tiroxina total asociado con embarazo, uso de anticonceptivos orales y terapia de estrógenos muy pocas veces da como resultado niveles totales de T4 por encima de los límites de lo normal, mientras que la concentración de tiroxina libre permanezca dentro del rango normal de referencia. El enmascaramiento de la función de tiroides anormal puede también ocurrir en condiciones hiper e hipotiroides por alteraciones en la concentración del TBG. El T4 total puede encontrarse elevado o disminuido por cambios en TBG tal es el caso de los niveles normales de referencia. La concentración de tiroxina libre puede ayudar a descubrir la condición clínica actual de un paciente.

De acuerdo con este método, el suero de referencia, la muestra del paciente o los controles se agregan en primer término a un pozo de micro placas. El conjugado de enzima T4 (método análogo) se adiciona y se mezclan los reactantes. Se obtiene una reacción de competencia entre el conjugado de enzimas y la tiroxina libre para un número limitado de anticuerpos que combinen sitios inmovilizados en el pozo.

Después de terminar el periodo requerido de incubación, el conjugado enzima-Tiroxina unido por anticuerpos se separa del conjugado enzima –Tiroxina no enlazado vía procedimiento de lavado. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo se cuantifica por reacción con un sustrato adecuado para producir luz mediante aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo se cuantifica por reacción con un sustrato adecuado para producir luz.

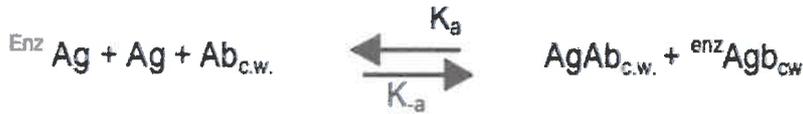
La utilización de varios sueros de referencia de concentraciones conocidas de tiroxina libre permitirá la construcción de un gráfico de actividad y concentración. A partir de una comparación con la curva de respuesta de dosis, se puede correlacionar la actividad de una muestra desconocida con la concentración de tiroxina libre.

Principio del método

Inmunoensayo de quimioluminiscencia competitiva-método análogo para T4 libre

Los reactivos esenciales requeridos para un inmunoensayo de enzima de fase sólida incluyen anticuerpos inmovilizados, conjugado de enzima-antígeno y antígeno nativo. Al mezclar el anticuerpo inmovilizado, el conjugado enzima-antígeno y un suero que contenga el antígeno libre nativo, se obtendrá como resultado una reacción de competencia entre el antígeno libre nativo y el conjugado enzima-antígeno para un

número limitado de sitios de enlace insolubilizados. La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:



Abc.w = Anticuerpo Mono específico Inmovilizado (Cantidad constante)

Ag Enz = Antígeno Nativo (Cantidad variable)

Ag = Conjugado Enzima-Antígeno (Cantidad constante)

Ag Enz Abc.w = Complejo Antígeno-anticuerpo

Ag Abcw = Conjugado enzima-antígeno – Complejo de Anticuerpo

Ka = Tasa Constante de Asociación

k-a = Tasa Constante de Disociación

K = Ka / K -a = Equilibrio Constante

Después de lograr el equilibrio, la fracción anticuerpo –enlace se separa del antígeno no enlazado por decantación o aspiración. La actividad de la enzima, determinada por la reacción con un sustrato que genera luz, en la fracción anticuerpo – enlace será inversamente proporcional a la concentración nativa de antígeno libre. Al utilizar varios sueros de referencia de concentración de antígeno conocido, se puede generar una curva de respuesta de dosis a partir de la cual se evaluará la concentración de antígeno de una muestra desconocida.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

Preparación de los reactivos

- 3. Buffer de Lavado:** Diluir la solución de lavado concentrada, con agua destilada hasta un volumen de 1000 ml. Almacenar a temperatura ambiente 20-27 ° C.
- 4. Solución de trabajo:** Conservar a 2-8 ° C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando partes iguales de reactivo señal A y reactivo señal B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir 1 ml de A y 1ml de B para tener un total de 2 ml lo cual es suficiente para 2 tiras de 8 pozos (se debe preparar con un ligero exceso). Deseche la porción no utilizada si no se usa dentro de 36 horas después de la mezcla. Si se prevé la utilización completa de los reactivos entonces, verter el contenido del reactivo señal B en el frasco conteniendo el reactivo señal A.



Procesamiento manual:

1. Preparar todas las muestras de acuerdo al “procedimiento de extracción de muestras” en la sección 8.0 Preparación de reactivos.
2. Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado. NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C.
3. Pipetee 0.05 ml del calibrador de suero de referencia apropiado, muestra diluida o control en los pocillos asignados.
4. Añada 0,100 ml de reactivo trazador a cada pocillo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cerca del pozo. Mover suavemente la placa por 20 o 30 segundos para mezclar.
5. Incubar por 45 min en campo oscuro.
6. Agregar 0.350 ml (350 µl) de buffer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una piceta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la solución de lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.
7. Agregar 0.100 ml (100 µl) de reactivo señal de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo.

Interpretación de los resultados

Población	ng / ml
Adultos	0.8 – 2.0
Embarazadas	0.76-2.24





TRİYODOTIRONINA T3; LIBRE

Significado Clínico

La Triyodotironina, que es una hormona de la tiroides, circula en el torrente sanguíneo enlazada casi completamente (> 99.5%) a proteínas portadoras (1,2). La principal proteína de transporte es la globulina enlazada con la tiroxina (TBG). Sin embargo, tan solo la porción libre (sin enlace) de la Triyodotironina se considera como responsable de la acción biológica. Por otra parte, las concentraciones de las proteínas portadoras se alteran en muchas condiciones clínicas, tales como el embarazo. En condiciones normales de funcionamiento de la tiroides, las concentraciones de las proteínas portadoras se alteran, cambian el nivel de Triyodotironina total luego las concentraciones de Triyodotironina libre permanecen constantes. Por lo tanto, las mediciones de las concentraciones de Triyodotironina Libre se correlacionan de manera más confiable con el estado clínico que con los niveles de Triyodotironina total.

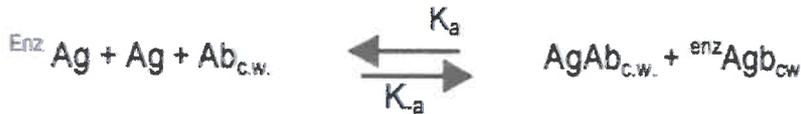
Por ejemplo, el incremento de los niveles de Triyodotironina total asociados con el embarazo, anticonceptivos orales y terapia de estrógeno da como resultados de niveles totales de T3 mas elevados, en tanto que la concentración del T3 libre permanece básicamente sin modificaciones.

Esta metodología de inmunoensayo por quimioluminiscencia de microplacas le proporciona al laboratorista una óptima sensibilidad con bajos requerimientos de manipulación técnicas dentro de una determinación directa del T3 Libre. De acuerdo con este método, suero de referencia, la muestra del paciente o el control se agregan en primer lugar a un pozo de microplacas.

El conjugado enzima-T3 (método análogo), se adiciona y luego se mezclan los reactivos. Se obtiene una reacción de competencia entre el conjugado de la enzima y la Triyodotironina Libre para un número limitado de sitios de combinación de anticuerpos inmovilizados en el pozo. Después de terminar el periodo requerido de incubación, el conjugado enzima - Triyodotironina Libre enlazado a anticuerpos se separa del conjugado enzima Triyodotironina sin enlace por aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente sobre superficie del pozo es cuantificada mediante reacción con el sustrato adecuado para producir luz.

Principio del método

Inmunoensayo de quimioluminiscencia competitiva – método análogo para T3 libre
Los reactivos esenciales requeridos para un inmunoensayo enzimático de fase sólida incluyen el anticuerpo inmovilizado T3, el conjugado enzima –T3 y el antígeno T3 libre nativo. El conjugado enzima –T3 libre no debe tener ningún enlace medible con las proteínas séricas especialmente TBG y albúmina. El método logra este propósito al mezclar el anticuerpo inmovilizado, el conjugado enzima –T3 y un suero que contiene el antígeno nativo T3 libre, se obtiene una reacción de competencia entre el T3 libre nativo y el conjugado enzima –T3 para un número ilimitado de sitios de enlace de insolubilización. La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:



Abc.w = Anticuerpo Mono específico Inmovilizado (Cantidad constante)

Ag Enz = Antígeno Nativo (Cantidad variable)

Ag = Conjugado Enzima-Antígeno (Cantidad constante)

Ag Enz Abc.w = Complejo Antígeno-anticuerpo

Ag Abcw = Conjugado enzima-antígeno – Complejo de Anticuerpo

Ka = Tasa Constante de Asociación

k-a = Tasa Constante de Disociación

K = Ka / K -a = Equilibrio Constante

Después de lograr el equilibrio, la fracción anticuerpo –enlace se separa del antígeno no enlazado por decantación o aspiración. La actividad de la enzima, determinada por la reacción con un sustrato que genera luz, en la fracción anticuerpo – enlace será inversamente proporcional a la concentración nativa de antígeno libre. Al utilizar varios sueros de referencia de concentración de antígeno conocido, se puede generar una curva de respuesta de dosis a partir de la cual se evaluará la concentración de antígeno de una muestra desconocida.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

Preparación de los reactivos

5. **Buffer de Lavado:** Diluir la solución de lavado concentrada, con agua destilada hasta un volumen de 1000 ml. Almacenar a temperatura ambiente 20-27 ° C.
6. **Solución de trabajo:** Conservar a 2-8 ° C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando partes iguales de reactivo señal A y reactivo señal B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir 1 ml de A y 1ml de B para tener un total de 2 ml lo cual es suficiente para 2 tiras de 8 pozos (se debe preparar con un ligero exceso). Deseche la porción no utilizada si no se usa dentro de 36 horas después de la mezcla. Si se prevé la utilización completa de los reactivos entonces, verter el contenido del reactivo señal B en el frasco conteniendo el reactivo señal A.

Procesamiento manual:

1. Preparar todas las muestras de acuerdo al “procedimiento de extracción de muestras” en la sección 8.0 Preparación de reactivos.

2. Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado. NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C.
3. Pipetee 0.05 ml del calibrador de suero de referencia apropiado, muestra diluida o control en los pocillos asignados.
4. Añada 0,100 ml de reactivo trazador a cada pocillo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cerca del pozo. Mover suavemente la placa por 20 o 30 segundos para mezclar.
5. Incubar por 45 min en campo oscuro.
6. Agregar 0.350 ml (350 µl) de buffer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una piceta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la solución de lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.
7. Agregar 0.100 ml (100 µl) de reactivo señal de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo.

Interpretación de los resultados

Población	pg / ml
Adultos	1.4 – 4.2
Embarazadas	1.8 – 4.2

HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES (TSH)

Significado Clínico

La medición de la concentración de Tirotropina (TSH), una glucoproteína con un peso molecular de 28,000 Daltons y secretada por la pituitaria anterior está generalmente relacionada como el indicador más sensible en el diagnóstico de hipotiroidismo primario y secundario.



La estructura de la TSH es similar al de la pituitaria y gonotropina placentaria consistente de 89 amino ácidos sub unidad alfa el cual es idéntica entre estas hormonas y un aminoácido 115 sub unidad beta el cual aparentemente confiere la especificidad hormonal. La producción de estas dos subunidades es separadamente regulada con aparente producción en exceso de la sub unidad alfa. La molécula de TSH tiene una estructura lineal consistente de la proteína core con cadenas de lado carbohidratado, estas últimas significan el 16% del peso de la molécula.

El incremento en la concentración de TSH en el suero es primordialmente responsabilidad de la síntesis o degradación de la hormona tiroidea. Es un indicador sensible y temprano de la disminución de la reserva tiroidea. Y en conjunción con disminuciones de tiroxina (T4) sirve para el diagnóstico primario del hipotiroidismo. El aumento esperado de las concentraciones de TSH demuestra el clásico sistema de retroalimentación negativa entre las glándulas pituitaria y tiroides. Es decir, la insuficiencia de la glándula tiroidea primaria reduce la secreción de hormonas tiroideas, lo que a su vez estimula la liberación de TSH de la pituitaria.



Además, las mediciones de TSH son igualmente útiles para diferenciar el hipotiroidismo secundario y terciario (hipotalámico) de la enfermedad tiroidea primaria. La liberación de TSH de la hipófisis está regulada por el factor de liberación de tirotropina (TRH), que es secretado por el hipotálamo, y por la acción directa de T4 y triyodotironina (T3), las hormonas tiroideas, en la hipófisis. El aumento de los niveles de T3 y T4 reduce la respuesta de la pituitaria a los efectos estimulantes de la TRH. En el hipotiroidismo secundario y terciario, las concentraciones de T4 suelen ser bajas y los niveles de TSH son generalmente bajos o normales. La deficiencia de TSH hipofisaria (hipotiroidismo secundario) o la insuficiencia de estimulación de la hipófisis por TRH (hipotiroidismo terciario) causan esto. La prueba de estimulación TRH diferencia estas condiciones. En el hipotiroidismo secundario, la respuesta de TSH a la TRH se atenúa, mientras que en el hipotiroidismo terciario se obtiene una respuesta normal o retardada.



Además, el advenimiento de los ensayos inmunoenzimométricos ha proporcionado al laboratorio la sensibilidad suficiente para permitir diferenciar el hipertiroidismo de la población eutiroidea y ampliar la utilidad de las mediciones de TSH. Este método es un ensayo de segunda generación, que proporciona los medios para la discriminación en el rango hipertiroideo-eutiroideo.

En este método, el calibrador de TSH, la muestra del paciente o el control se agregan primero a un pocillo recubierto con estreptavidina. Se añaden anticuerpos monoclonales biotinilados y marcados con enzimas (Abs) y se mezclan los reactivos. La reacción entre



los diversos anticuerpos de TSH y la TSH nativa forma un complejo sándwich que se une con la estreptavidina que recubre el pocillo.

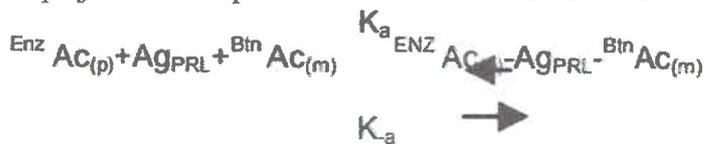
Una vez completado el período de incubación requerido, el conjugado enzima-tirotopina unido al anticuerpo se separa del conjugado enzima-tirotopina no unido por aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo se cuantifica por reacción con un sustrato adecuado para producir luz.

Principio del método

Ensayo inmunoenzimométrico (Tipo 3)

Los reactivos esenciales necesarios para una inmunoenzimometría Los ensayos incluyen anticuerpos de alta afinidad y especificidad (enzima conjugada e inmovilizada), con reconocimiento de epítipo diferente y distinto, en exceso, y antígeno nativo. En este procedimiento, la inmovilización tiene lugar durante el ensayo en la superficie de un pocillo de la microplaca mediante la interacción de la estreptavidina que recubre el pocillo y el anticuerpo antiTSH monoclonal biotinilado añadido exógenamente.

Al mezclar el anticuerpo monoclonal marcado con biotina, el anticuerpo marcado con enzima y el suero que contiene el antígeno nativo, dan lugar a una reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia u obstáculo estérico, para formar un complejo soluble tipo sándwich. La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:



Btⁿ Ac(m) Anticuerpo monoclonal Marcado con biotina (cantidad en exceso)

AgPRL = Antígeno nativo (cantidad variable)

ENZ Ab(p)= Anticuerpo marcado con Enzima (Cantidad en exceso)

Enz Ac (p) - AgPRL. - Btⁿ Ac(m)=Complejo en sándwich antígeno- anticuerpo

K_a = Tasa Constante de Asociación

k_{-a} = Tasa Constante de Disociación

Simultáneamente el complejo se deposita en el pozo a través de la alta afinidad de reacción entre la estreptavidina y el anticuerpo marcado con biotina. Esta interacción se ilustra a continuación.



Estreptavidina_{CW} = estreptavidina inmovilizada en el pozo. Complejo inmovilizado= Complejo en sándwich enlazado al pozo.

Luego de un periodo adecuado, el anticuerpo enlazado a la fracción es separado del antígeno no enlazado por decantación o aspiración. La actividad enzimática determinada por la reacción con el sustrato que genera luz, el anticuerpo enlazado a la fracción será directamente proporcional a la concentración relativa del antígeno. Al Utilizar varias referencias de suero de valores conocidos del antígeno, se puede generar una curva dosis-



respuesta a partir de la cual se evalúa la concentración de antígeno de una muestra desconocida.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

Preparación de los reactivos

7. **Buffer de Lavado:** Diluir la solución de lavado concentrada, con agua destilada hasta un volumen de 1000 ml. Almacenar a temperatura ambiente 20-27 ° C.
8. **Solución de trabajo:** Conservar a 2-8 ° C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando partes iguales de reactivo señal A y reactivo señal B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir 1 ml de A y 1ml de B para tener un total de 2 ml lo cual es suficiente para 2 tiras de 8 pozos (se debe preparar con un ligero exceso). Deseche la porción no utilizada si no se usa dentro de 36 horas después de la mezcla. Si se prevé la utilización completa de los reactivos entonces, verter el contenido del reactivo señal B en el frasco conteniendo el reactivo señal A.

Procesamiento manual:

1. Preparar todas las muestras de acuerdo al “procedimiento de extracción de muestras” en la sección 8.0 Preparación de reactivos.
2. Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado. NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C.
3. Pipetee 0.05 ml del calibrador de suero de referencia apropiado, muestra diluida o control en los pocillos asignados.
4. Añada 0,100 ml de reactivo trazador a cada pocillo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cerca del pozo. Mover suavemente la placa por 20 o 30 segundos para mezclar.
5. Incubar por 45 min en campo oscuro.
6. Agregar 0.350 ml (350 µl) de buffer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una pizeta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la solución de lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.



7. Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo señal de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo.

Interpretación de los resultados

Población	ng / ml
Población Normal Adulta	0.3 - 6.02 μ IU/ml





DOSAJE DE CIANOCOBALAMINA (VITAMINA B-12)

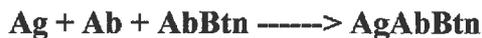
Significado Clínico

La Vitamina B 12 es una de las nueve vitaminas hidrosolubles importantes en el funcionamiento saludable del cuerpo humano. Los roles más importantes de la vitamina B12 están referidos a la formación de glóbulos rojos en la sangre la formación de mielina alrededor de los nervios. Los síntomas relacionados a la falta de Vitamina B12 a veces son ambiguos.

Una deficiencia puede notarse en meses o años dependiendo de las causas y de la salud de la persona. Dos de las causas más comunes de la deficiencia de Vitamina B12 son la dieta y la edad. Porque muchas fuentes de vitamina B12 son procedentes de animales la falta de esta vitamina justamente comienza por los hábitos alimenticios de la gente. Al ingresar la vitamina B12 al organismo mediante la ingesta, la digestión se inicia con la saliva, luego la vitamina B12 se une a las proteínas de los alimentos que son liberados por los ácidos. Luego la B12 se une a Factor Intrínseco convirtiéndose en una sustancia suficientemente estable para viajar a través del tubo intestinal donde puede ser absorbida gracias a la asociación con el Factor Intrínseco (FI).

Principio del método

Los reactivos esenciales requeridos para un inmunoensayo enzimático incluyen anticuerpos, conjugado enzima-antígeno y antígeno nativo. Mezclando el anticuerpo biotinilado, el conjugado enzima-antígeno y un suero que contiene el antígeno nativo, se produce una reacción de la competencia entre el antígeno nativo y el conjugado antígeno enzima para un número limitado de sitios de enlace. La interacción es ilustrada por la ecuación seguida:



Ab = anticuerpo biotinilado

Ag = Antígeno Nativo (cantidad variable)

AgAb = complejo inmune

Después de una corta incubación se agrega el conjugado enzimático, luego de lo cual hay una reacción de competencia entre el análogo de la enzima y el antígeno en la muestra por un número limitado de anticuerpos.



enz = enzima-antígeno conjugado (cantidad constante)

AgAbBtn = Complejo Antígeno-Anticuerpo biotina

rAbB = Anticuerpo biotina no reaccionado en la primera incubación

k = constante de velocidad de la Asociación

ak = tasa constante de disociación

-Ak = k / k = constante de equilibrio

Se produce una reacción simultánea entre la biotina unida al anticuerpo y la estreptavidina inmovilizada en el pocillo. Esto ocasiona la separación del anticuerpo al momento de la decantación y los lavados.

$\text{AgAbBtn} + \text{EnzAgAbBtn} + \text{StreptavidinCW} \Rightarrow \text{inmovilizados complejos}$
 $\text{StreptavidinCW} = \text{estreptavidina inmovilizada en bien Complejo inmovilizado} =$
 $\text{Complejo sándwich unido a la superficie sólida.}$



La actividad de la enzima en la fracción de anticuerpo unido es inversamente proporcional a la concentración de antígeno nativo. Al utilizar varios sueros de referencia de concentración conocida se genera una curva de dosis-respuesta en la cual es posible posteriormente medir la concentración de un suero desconocido.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.
Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.
No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

Preparación de los reactivos

- 
9. **Buffer de Lavado:** Diluir la solución de lavado concentrada, con agua destilada hasta un volumen de 1000 ml. Almacenar a temperatura ambiente 20-27 ° C.
 10. **Solución de trabajo:** Conservar a 2-8 ° C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando partes iguales de reactivo señal A y reactivo señal B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir 1 ml de A y 1ml de B para tener un total de 2 ml lo cual es suficiente para 2 tiras de 8 pozos (se debe preparar con un ligero exceso). Deseche la porción no utilizada si no se usa dentro de 36 horas después de la mezcla. Si se prevé la utilización completa de los reactivos entonces, verter el contenido del reactivo señal B en el frasco conteniendo el reactivo señal A.

Procesamiento manual:

- 
1. Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado.
NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C.
 2. Pipetear 0.050 ml (50 ul) del apropiado calibrador con extracto de Vit. B12, control o muestra en los pocillos asignados.
 3. Agregar 0.050 ml (50 ul) de reactivo Biotina Vit. B12 a cada pocillo.
 4. Mover suavemente la placa por 20 a 30 segundos para mezclar.
 5. Cubrir e incubar 45 minutos a temperatura ambiente.



6. Agregar 0.050 ml (50 ul) de reactivo trazador Vit. B12 AGREGAR DIRECTAMENTE DESDE ARRIBA LOS REACTIVOS EN LOS POCILLOS.
7. Mover suavemente la placa por 20 a 30 segundos para mezclar.
8. Cubrir e incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
9. Descartar el contenido de las microplacas por decantación o aspiración. Si se decanta dar un golpecito y secar con papel absorbente.
10. Agregar 350 µl de buffer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una piceta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la solución de lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.
11. Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo señal de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo. NO AGITAR LOS POCILLOS DESPUES DE AGREGAR ESTE REACTIVO.
12. Incubar a temperatura ambiente por 5 minuto.
13. Leer las unidades relativas de luz (RLU) en cada pocillo, por 0.2 – 1.0 segundos, usando un iluminómetro de microplacas. Los resultados deberán ser leídos entre los 30 minutos después de agregar la solución de reactivo señal.

Interpretación de los resultados

Población	Pg/ml	Pmol/L
Recién nacido	160-1300	0 - 20 UI/ml
Adulto	200-835	148-616
Mayor de 60 años	110-800	81-590



DOSAJE DE ACIDO FÓLICO; SÉRICO

Significado Clínico

El consumo de folato como suplemento se ha intensificado en los últimos años a raíz del conocimiento de sus muchos beneficios. Como uno de las vitaminas B, ácido fólico o vitamina B9, está involucrado en muchas funciones corporales y la deficiencia puede causar la enfermedad no sólo en las personas mayores, sino también en los niños.

La deficiencia de folato está asociada con anemia megaloblástica, defectos del tubo neural y enfermedades cardiovasculares. El folato juega un papel importante en el desarrollo del cerebro y por lo tanto es vital durante el crecimiento. Los defectos más comunes resultantes de las deficiencias de folato son los defectos del tubo neural. Con un papel vital en la síntesis de ácido nucleico, el folato se ha encontrado que es beneficioso administrado como suplemento durante el embarazo, así como en épocas de crecimiento rápido de los tejidos.

El folato también juega un papel vital en el mantenimiento de un equilibrio adecuado de la homocisteína, un factor que contribuye a la aparición de enfermedades vasculares oclusivas y accidente cerebrovascular. Las personas con susceptibilidad a la enfermedad cardíaca y varias formas de cáncer también pueden beneficiarse de los suplementos. Como fuentes mayores de folato se incluyen a las verduras de hoja verde, legumbres, frijoles y cereales fortificados.

Los alimentos enriquecidos con folato en realidad están fortificados con ácido fólico debido a su más alta biolabilidad para ser absorbidos por el cuerpo. El folato en circulación está presente en diferentes formas algunas de las cuales son más estables que otras. El ácido fólico y metiltetrahydrofolato son dos formas comunes siendo este último más estable y se encuentra en mayores concentraciones en el suero. Debido a la estabilidad de la molécula de metiltetrahydrofolato, esta se utiliza muy a menudo en los métodos de análisis. Las proteínas unidas al folato son las responsables del metabolismo del folato. Existen dos tipos en circulación, un tipo ayuda en la unión a la superficie celular y existe la otra forma soluble en circulación. Estas proteínas de unión a folato también tienen la capacidad de unirse a varios diferentes derivados de folato incluyendo el ácido fólico y metiltetrahydrofolato.

La interacción entre el ácido fólico y las proteínas unidas al folato es mayor que con el metiltetrahydrofolato. Ensayos comunes existentes en el mercado requieren una etapa de extracción para liberar los derivados de folato de las proteínas unidas al folato. En el pasado, el folato se ha cuantificado en las muestras usando métodos tales como los ensayos microbiológicos, procedimientos y técnicas específicas bio HPLC-MS. En general, este rápido aumento en el conocimiento del folato, su importancia y la suplementación con ácido fólico, posteriormente, ha provocado una demanda mayor de los métodos de ensayo mejorados.

Principio del método

En un Inmunoensayo enzimático competitivo (TIPO 8) los reactivos esenciales requeridos incluyen anticuerpos, conjugado enzima-antígeno y antígeno nativo. Mezclando el anticuerpo con biotina, el conjugado enzima-antígeno y un suero que



contiene el antígeno nativo, se produce una reacción de competencia entre el antígeno nativo y el conjugado antígeno-enzima para un número limitado de sitios de enlace. La interacción es ilustrada por la ecuación seguida:

$ka \text{ EnzAg} + \text{Ag} + \text{AbBtn}$

$\text{AgAbBtn} + \text{EnzAgAbBtn}$

k-un AbBtn = anticuerpo biotinilado (cantidad constante) Ag

= Antígeno Nativo (cantidad variable)

EnzAg = enzima-antígeno conjugado (cantidad constante)

AgAbBtn = Complejo Antígeno-Anticuerpo

EnzAg AbBtn = conjugado enzima-antígeno-anticuerpo complejo

k = constante de velocidad de la Asociación

ak = tasa constante de disociación

-Ak = k / k = constante de equilibrio

Se produce una reacción simultánea entre la biotina unida al anticuerpo y la estreptavidina inmovilizada en el pocillo. Como efecto de la separación de la fracción de anticuerpo unido después de decantación o aspiración.

$\text{AgAbBtn} + + \text{EnzAgAbBtn} \text{ StreptavidinCW} \Rightarrow$ inmovilizados complejos
StreptavidinCW = estreptavidina inmovilizada en Complejo inmovilizado = Complejo sándwich unido a la superficie sólida.

La actividad enzimática de la fracción de anticuerpo unido es inversamente proporcional a la concentración de antígeno nativo. Al utilizar varios sueros referenciales de concentración conocida de antígeno, se genera una curva de dosis-respuesta a partir de la cual se puede determinar la concentración del antígeno de un suero desconocido.

Obtención y preparación de la muestra

Suero fresco. Estable 8 días a 2 - 8° C o 3 meses a -20° C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

Preparación de los reactivos

11. **Buffer de Lavado:** Diluir la solución de lavado concentrada, con agua destilada hasta un volumen de 1000 ml. Almacenar a temperatura ambiente 20-27 ° C.
12. **Solución de trabajo:** Conservar a 2-8 ° C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando partes iguales de reactivo señal A y reactivo señal B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir 1 ml de A y 1ml de B para tener un total de 2 ml lo cual es suficiente para 2 tiras de 8 pozos (se debe preparar con un ligero exceso). Deseche la porción no utilizada si no se usa dentro de 36 horas después de la mezcla. Si se prevé la utilización completa de los reactivos

entonces, verter el contenido del reactivo señal B en el frasco conteniendo el reactivo señal A.

Procesamiento manual:

1. Preparar todas las muestras de acuerdo al "procedimiento de extracción de muestras" en la sección: Preparación de reactivos. Es importante esperar 5 minutos antes de proceder a que la reacción de neutralización se complete (ver arriba)
2. Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado. NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C.
3. Pipetear 0.05 ml (50 ul) del apropiado calibrador de folato extraído, controles y muestras en cada pocillo asignado.
4. Agregar 0.050 ml (50 ul) de reactivo trazador Folato a cada pocillo.
5. Mover suavemente la placa por 20 a 30 segundos para mezclar.
6. Agregar 0.050 ml (50 ul) de reactivo Folato Biotina a cada pocillo.
7. Mover suavemente la placa por 20 o 30 segundos para mezclar.
8. Cubrir e Incubar 45 minutos a temperatura ambiente.
9. Descartar el contenido de las microplacas por decantación o aspiración. Si se decanta dar un golpecito y secar con papel absorbente.
10. Agregar 0.350 ml (350 µl) de buffer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una piceta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la solución de lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.
11. Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo señal de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo.

Interpretación de los resultados

Población	ng / ml
Población Normal Adulta	> 3.0 ng / ml





TIPIFICACIÓN DE SANGRE; GRUPO SANGUINEO ABD – PLACA

Significado Clínico

A comienzo del siglo pasado, Landsteiner descubrió que los individuos podían ser agrupados en A, B, AB u O de acuerdo a la presencia (grupos A, B, o AB) o ausencia (grupo O) de antígenos fuertemente inmunogénicos en la superficie de los glóbulos rojos. También demostró la existencia de anticuerpos (aglutininas) dirigidos contra los antígenos A y B y que el suero de un individuo no contiene anticuerpos para el antígeno presente en sus propios glóbulos rojos pero sí contra los que no posee. Actualmente se han identificado subgrupos de los grupos A y B. Todas estas observaciones revelaron la importancia de la compatibilidad ABO en la práctica transfusional.

Principio del método

La determinación de grupos sanguíneos del sistema ABO se efectúa enfrentando los glóbulos rojos del paciente con anticuerpos monoclonales Anti-A, Anti-B o Anti-AB. La aglutinación o no de los hematíes ensayados frente a cada uno de los reactivos indica la presencia o ausencia de los correspondientes antígenos.

Obtención y preparación de la muestra

Sangre total. Estable 2 días a 2 - 8° C
No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Procedimiento

c. Procedimiento en lámina: fase celular

- ✓ Rotular la placa excavada con la codificación de la muestra.
- ✓ Colocar en tres pocillos diferentes una gota de reactivos: anti A, anti B y anti D respetivamente.
- ✓ Agregar una gota de glóbulos rojos de la muestra a investigar en cada uno de los pocillos.
- ✓ Mezclar con la ayuda de una bagueta.
- ✓ Realizar movimientos de rotación en la placa para que se mezcle la muestra con el reactivo.
- ✓ La aglutinación se podrá visualizar a partir de los primeros 5 segundos en el caso de ser positivos.
- ✓ Leer e interpretar los resultados.



Interpretación de los resultados

Tipificación del Grupo ABO y el factor RH

Relación entre GR y antisueros conocidos (aglutinación directa)			Interpretación
Anti-A	Anti-B	Anti-D	GRUPO ABO
0	0	0	O Negativo
0	0	(+)	O Positivo
(+)	0	0	A Negativo
(+)	0	(+)	A Positivo
0	(+)	0	B Negativo
0	(+)	(+)	B Positivo
(+)	(+)	0	AB Negativo
(+)	(+)	(+)	AB Positivo



RESPONSABILIDADES

Jefe de Departamento de Apoyo al Diagnóstico:

- ✓ Responsable de aprobar los documentos del Sistema de Gestión de Calidad.

Jefe del Servicio al Diagnóstico / Encargada de Laboratorio Clínico:

- ✓ Participar en la revisión de los documentos del Sistema de Gestión de Calidad.

Encargada de Laboratorio Clínico:

- ✓ Participar en la revisión de los documentos del Sistema de Gestión de Calidad.
- ✓ Participar en la gestión del sistema documentario.
- ✓ Supervisar y controlar el registro correcto de los formatos y documentos del SGC, cuando corresponda.

Personal de Laboratorio:

- ✓ Informar al jefe del Departamento, Jefe del Servicio al Diagnóstico, Encargada de Laboratorio de la necesidad de actualización o elaboración de documentos.
- ✓ Cumplir con la documentación del Sistema de Gestión de Calidad.



ANEXOS

ANEXO 1. PRUEBA CUALITATIVA – RPR.....	26
ANEXO 2. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HIV	29
ANEXO 3. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HEP. B	32
ANEXO 4. PROCEDIMIENTOS PRUEBA HELICOBACTER PYLORI.....	34
ANEXO 5. PROCEDIMIENTOS HEP. C	37
ANEXO 6. PROCEDIMIENTOS PRUEBA PSA	45
ANEXO 7. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA METABOLITO COCAÍNA.....	48
ANEXO 8. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA METABOLITO MARIHUANA (THC)	
ANEXO 9. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA ANFETAMINA O METANFETAMINA	54
ANEXO 10. PROCEDIMIENTO PRUEBA RÁPIDA BENZODIAZEPINA	57
ANEXO 11. PROCEDIMIENTO PARA EL HISOPADO NASOFARINGEO.....	60
ANEXO 12. PREPARACIÓN DE MATERIAL PARA HISOPADO NASOFARINGEO	61



BIBLIOGRAFÍA

1. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO. INMUNOLOGIA.
Universidad Mariano Galvez. Guatemala – 2011.
2. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNOSTICO
SEROLÓGICO DE LAS ZONOSIS PARASITARIAS Y OTRAS
PRUEBAS INMUNOLOGICAS. INS- 2002.
3. MANUAL DE PRACTICAS DE INMUNOLOGIA CLINICA. Universidad
de Murcia. Profesor Gonzalo Rubio Pedraza.
4. MANUAL OF CLINICAL IMMUNOLOGY LABORATORY. 6th. Edition.
ASM. USA. Rose, N., Hamilton, R.G., Detrick, B. 2002
5. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO CLINICO
“T.M. Hernán Alcaino Lara”. Hospital San Camilo. Gobierno de
Chile. 2da. Edición – Noviembre 2011.





HOSPITAL
HERMILO VALDIZAN

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL
ÁREA DE INMUNOLOGÍA

M01-TM

Ver. 01

Pág. [87]

