



## Muestras

Suero o plasma.

Muestras pueden almacenarse hasta por 7 días de 2...8 °C o por más largo tiempo a -20 °C. Congelar y descongelar solamente una vez.

No usar muestras inactivadas con calor y detergente.

## Procedimiento

Seguir el procedimiento exactamente como se describe. Particularmente críticas son las etapas de lavado.

**Llevar todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente antes del uso.** Al comenzar el análisis deberían registrarse las muestras y controles en la hoja provista en el estuche para este fin. Seleccionar el número requerido de micropocillos (1) y colocarlos en el portaplaca (10).

Asegurarse de una correcta transferencia de calor durante los 60 minutos de incubación a 37 °C. Poner los micropocillos sobre un papel absorbente húmedo y precalentado en el termoblock del incubador.

### Etapas 1

1. Lavar los micropocillos inmediatamente antes del uso agregando  
400 µl **Solución de Lavado de trabajo (3a)** por pocillo. Incubar por 30 segundos. Aspirar y eliminar cuidadosamente. Remover líquido remanente invirtiendo los micropocillos sobre papel absorbente.
2. Pipetear  
100 µl **Buffer de Dilución (2)** en todos los pocillos
3. Agregar  
20 µl **Control Negativo (4)** a pocillos B1/C1/D1  
20 µl **Control Positivo (5)** a pocillos E1/F1  
20 µl Muestras de pacientes a pocillos remanentes  
Cuando se empleen pipetas, aspirar controles y muestras al menos dos veces para homogenizar la solución o tener cuidado de mezclar bien por agitación.
4. Incubar  
30 min. a 37°C
5. Preparar **Solución Conjugado de trabajo (6a)**.
6. Aspirar y eliminar el contenido de los pocillos en una solución de Hipoclorito al 5 %, y agregar  
400 µl **Solución de Lavado de trabajo (3a)**. Después de 30 segundos aspirar y eliminar nuevamente repitiendo este lavado 4 veces.  
Si se emplea un lavador automático (por ejemplo Humawasher), cebar el lavador con Solución de Lavado de trabajo (3a) y lavar los micropocillos **5 veces**. Asegurarse que el lavador llena todos los pocillos completamente y aspira completamente después de 30 segundos (líquido remanente < 10 µl)!  
**i No reducir el tiempo de absorbancia y el número de ciclos de lavado!**  
**Remover el líquido remanente colocando la placa invertida sobre papel absorbente.**

### Etapas 2

1. Dispensar  
100 µl **Solución Conjugado de trabajo (6a)** en todos los pocillos
2. Incubar  
15 min. a 37°C
3. Preparar **Solución Substrato de trabajo (7a)**.
4. Lavar los pocillos 5 veces como se describe en Etapa 1 N° 6

### Etapas 3

1. Dispensar  
100 µl **Solución Substrato de trabajo (7a)** en todos los pocillos
2. Incubar  
15 min. en la oscuridad a temperatura ambiente (20...30°C).
3. Dispensar  
100 µl **Solución de Detención (9)** en todos los pocillos
4. Medir la absorbancia antes de 30 min. contra Blanco A1 a  
450 nm usando una longitud de referencia entre 620 and 690 nm (si está disponible)

**Nota:** Es aconsejable usar pipetas de 8 canales para los pipeteos en etapas 2 y 3 para minimizar tiempos de demora entre los pocillos. Emplear puntas separadas para diferentes reactivos.

## Cálculos

Calcular la absorbancia promedio de los controles negativo (**MNC**) y positivo (**MPC**) a 450 nm:

$$\text{MNC} = \{A_{450} (\text{B1}) + A_{450} (\text{C1}) + A_{450} (\text{D1})\} : 3$$

$$\text{MPC} = \{A_{450} (\text{E1}) + A_{450} (\text{F1})\} : 2$$

## Cálculo del Punto de Corte o Valor Cut-off (COV)

$$\text{COV} = \text{MNC} + 0.300$$

## Validación del análisis

Los resultados del análisis son válidos si se cumplen los siguientes criterios :

1. **MNC < 0.150**
2. **MPC > 1.000**

## Interpretación de Resultados

Muestras con valores de absorbancia  $A_{450} \geq \text{COV}$  se consideran reactivas para anticuerpos anti-VIH.

Muestras con valores de absorbancia  $A_{450} < 0.9 \times \text{COV}$  se consideran negativas para anticuerpos anti-VIH.

Muestras con valores de absorbancia  $A_{450}$  entre  $0.9 \times \text{COV}$  y  $\text{COV}$  son equívocas.

Muestras reactivas o equívocas deberían ser reanalizadas. Si sus resultados son repetidamente reactivos o equívocos, deberían ser sometidas a un análisis de confirmación (Western Blot).

A pesar de su alta especificidad, típica de inmunoensayos, pueden encontrarse en raras oportunidades resultados falsos positivos, (ver Limitaciones).

Este análisis no entrega indicación alguna acerca de si los anticuerpos en muestras reactivas están dirigidos contra VIH 1 o 2. Pueden ser necesarios análisis adicionales para distinguir entre los dos virus.

Ausencia de anticuerpos VIH no excluye absolutamente una infección VIH.

## Limitaciones

Muestras séricas que contienen factores reumatoides, altos niveles de inmuno complejos o anticuerpos IgM naturales multirreactivos en caso de enfermedades infecciosas crónicas pueden producir ocasionalmente resultados falsos positivos.

## Referencias

1. Gnann, J.W. *et al.*, Meth. Enzym. **178**, 693-714 (1989)
2. Porstmann, T. *et al.*, Z. Klin. Med. **45** (4), 341-346 (1990)
3. Cooper, D., *et al.*; J. Infec. Dis. **155**, 1113-1118 (1987)
4. Levy, J.A., J. Am. Med. Assoc. **261**, 2997-3006 (1989)
5. Moss, A.R., Bacchetti, P., AIDS **3**, 55-61 (1989)

EL-HIV  
INF 5120501 E  
03-2003-13



Human Gesellschaft für Biochemia und Diagnostica mbH  
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany  
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de