

## Instrucciones de uso

# VIH-1+2 Ab & P24 Antígeno ELISA

Para la detección del Virus de Inmunodeficiencia Humano

Anticuerpo Tipo 1+2 y Antígeno Tipo 1 P24

En suero humano o plasma (*in vitro*)

Este es un ensayo de 4ta generación para la detección simultánea de anticuerpos de VIH-1 y VIH-2 así como el antígeno P24 de VIH-1. Este ensayo está basado en los péptidos recombinante y sintético para la detección de anticuerpo y anticuerpo monoclonal específico de la proteína P24 del VIH-1. Posee gran significancia en el diagnóstico de la infección/detección de VIH para la sangre donada para prevenir la transmisión de VIH a los recipientes y como una ayuda en el diagnóstico clínico de las infecciones relacionadas con VIH.

### REACTIVOS:

1. Microplaca	96 pocillos	Microplaca plástica cubierta con anticuerpo anti-P24 monoclonal murino y antígenos VIH-1+2; 8 pocillos x 12 o 12 pocillos x 8
2. Control negativo	1mL x 1	Plasma humano, negativo para Antígenop24 VIH-1 y HBsAg, anti-HCV, anti-VIH-1+2
3. Control positivo 1	1mL x 1	Plasma humano conteniendo anticuerpo de VIH-1+2, negativo para HBsAg, anti-HCV
4. Control positivo 2	1mL x 1	Plasma humano conteniendo antígeno P24 recombinante VIH-1, negativo para HBsAg, anti-HCV y anti-VIH 1+2
5. Conjugado 1	5mL x 1	Anticuerpo anti-P24 biotinilado policlonal de conejo
6. Conjugado 2	12mL x 1	Estreptavidina marcada con HRP y antígeno VIH marcado con HRP
7. Buffer de lavado	40mL x 1	PBS-Tween, 20x concentrado
8. Solución de substrato A	6mL x 1	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en buffer aceto
9. Solución de Substrato B	6mL x 1	Solución TMB
10. Solución de parada	6mL x 1	2mol/l H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
11. Cubierta de placa	3 piezas	
12. Prospecto	1 copia	

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

1. Preparación de reactivos: Diluir 1 volumen de Buffer de Lavado con 19 volúmenes de agua destilada, mezclar bien.
2. Añadir Conjugado 1 y muestras: Abra la bolsa de aluminio y remueva la Microplaca. Coloque 1 pocillo como en Blanco, 2 pocillos como Control Negativo, 2 pocillos como Control Positivo 1, 2 pocillos como Control Positivo 2. Después de dispensar 75µl de muestra o Control Negativo o Control Positivo a los pocillos correspondientes, dispense 25µl del Conjugado 1 a cada pocillo (excepto el pocillo en Blanco). Vibre suavemente la placa.
3. Incubar: Cubra la Microplaca con la cubierta de placa e incube la Microplaca en un baño de agua controlado con termostato o con una incubadora de microplaca a 37°C por 60 minutos.
4. Lavar la placa: Remueva la cubierta de la placa. Aspire el contenido de todos los pocillos. Llene los pocillos con buffer de lavado diluido (10-20 segundos de remojo) luego aspire de nuevo. Repita el procedimiento 5 veces. Asegúrese que el resto de volumen es mínimo, tocando la placa con papel absorbente.
5. Añadir Conjugado 2: Añada 100µl de Conjugado 2 a cada pocillo (excepto el pocillo en Blanco).
6. Incubar: Cubra la microplaca e incube la placa a 37°C por 30 minutos.
7. Lavar la lámina: Repita el procedimiento de lavado como en el paso 4.
8. Añadir substrato: Añada 50µl de Solución de Substrato A y 50µl de Solución de Substrato B a cada pocillo, mezcle bien. Cubra e incube a 37°C por 10 minutos.

9. Reacción de parada: Añada 50µl de Solución de Parada a cada pocillo, mezcle bien.
10. Lea la absorbencia a 450nm, si se utiliza una medida de longitud de onda dual, la longitud de onda de referencia debería ser seleccionada de 620nm a 690nm.

## RESULTADOS:

1. Para validar el ensayo, el valor promedio OD de los Controles Negativos debe ser menos o igual a 0.1 y el valor promedio de los Controles Positivos debe ser mayor o igual a 0.8.
2. Valor de corte =  $0.100 + NC$ .  
NC = El valor promedio de absorbencia para dos controles negativos.
3. Calcular al valor S/CO. La señal promedio para la tasa de corte (S/CO) es definido como la Absorbencia de la Muestra Promedio dividida por el valor de Corte calculado.
4.  $S/CO \geq 1$ , es positivo para anticuerpo VIH-1+2 o antígeno P24 VIH-1.  
 $S/CO < 1$ , es negativo para anticuerpo VIH-1+2 y antígeno P24 VIH-1.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Resultados repetidamente positivos del anticuerpo VIH-1+2 y el antígeno ELISA P24 VIH-1 son una presunta evidencia de anticuerpo VIH-1+2 y antígeno P24 VIH-1 en la muestra. Un resultado no reactivo de anticuerpo VIH-1+2 y el antígeno ELISA P24 VIH-1 indica una ausencia probable de anticuerpo VIH-1+2 y el antígeno P24 VIH-1 en la muestra. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o infección de VIH. Se puede sospechar de resultados falsamente positivos debido a la naturaleza de este kit de prueba. Puede sospecharse de resultados falsos positivos con un kit de prueba de esta naturaleza. La proporción de falsos positivos dependerá de la sensibilidad y especificidad del kit de prueba.

## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL METODO

### Sensibilidad

Los estudios de sensibilidad fueron evaluados utilizando el panel de referencia nacional de Antígeno P24 VIH-1 preparado por el Instituto Nacional para el Control de Productos Farmacéuticos y Biológicos (China), la concentración mínima de detección es 10pg/ml.

### Especificidad

La especificidad fue determinada en muestras de donadores de sangre (19755 muestras probadas) y en pacientes hospitalizados (3712 muestras probadas). La especificidad calculada es respectivamente 99.90%  $((19755-19/19755) \times 100\%)$  y 99.89%  $((3712-4/3712) \times 100\%)$ .

### Precisión

La reproducibilidad del ensayo fue determinada probando 3 muestras en réplicas de 10 en 2 ensayos consecutivos utilizando el mismo lote de producción. La desviación estándar intra-ensayo e inter-ensayo (S.D.) y el coeficiente de variación (%CV) fueron calculados.

El valor esperado del CV no es más alto que el 15%.

## PRECAUCIONES

1. Permitir que todos los componentes del kit alcancen temperatura ambiente antes de usar.
2. Seguir las instrucciones del prospecto para el control de la reacción temperatura y tiempo estrictamente.
3. No mezcle los componentes de diferentes números de lotes.
4. El kit debe ser almacenado a 2-8°C. No utilizar los componentes del kit más allá de su fecha de expiración.