


idime

Instituto de Diagnóstico Médico S.A.

IDIME

Guía: Guia de Actividades Seccion Serologias

Copia no Controlada

	IDIME	
	Proceso: Apoyo Diagnóstico	
	Subproceso: Laboratorio Clínico y Toma de Muestras	
	Guía: Guía de Actividades Sección Serologías	
	Código	ID-ADLAB-GU-21
	Fecha	2020-08-04
	Versión	10.0

Estratégico	Misional	Apoyo Operacional	Evaluación	Gerencial	Asistencial	Apoyo	Atención
--------------------	-----------------	--------------------------	-------------------	------------------	--------------------	--------------	-----------------

Objetivo

Describir las actividades que se realizan en la sección de Serologías del laboratorio clínico con el propósito de divulgar y unificar conceptos en todo el personal que lo consulte.

Desarrollo

ALCANCE

Aplica para la sede de Pamplona que realiza el procesamiento de muestras de la sección de serologías

RECOMENDACIONES GENERALES

Para el manejo de los equipos de la sección consulte las [GUÍAS RÁPIDAS DE EQUIPOS BIOMEDICOS](#) en proceso de gestión tecnológica/ documentos asociados/ Guías Rápidas Equipos Biomedicos

- Todos los resultados de pruebas de montaje manual deben ser validados por la persona que los procesa.

DESARROLLO

PRUEBA RÁPIDA COVID-19 Ag Test

Uso previsto

La prueba STANDARD Q COVID-19 Ag es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de antígenos específicos para COVID-19 presentes en la nasofaringe humana. Esta prueba es para uso profesional de diagnósticos in vitro y ha sido diseñada como un método auxiliar en el diagnóstico oportuno de infección por COVID-19 en pacientes con síntomas clínicos de infección por COVID-19. Esta prueba sólo otorga un resultado de control inicial. Para confirmar la infección con COVID-19 se deben emplear métodos de diagnóstico alternativos más específicos.

Principio de la muestra

La prueba STANDARD Q COVID-19 Ag tiene dos líneas precubiertas en la superficie de la membrana de nitrocelulosa: la línea control "C" y la línea de prueba "T". Tanto la línea control como la línea de prueba son invisibles antes de la aplicación de las muestras. La región de la línea de prueba está cubierta con anticuerpo anti-COVID-19 monoclonal de ratón y la región de la línea control está cubierta anticuerpo anti-pollo IgY monoclonal de ratón. El anticuerpo anti-COVID-19 monoclonal de ratón conjugado con partículas de color se utiliza como detector del antígeno COVID-19 en el dispositivo. Durante la prueba, el antígeno COVID-19 en la muestra interactúa con el anticuerpo anti-COVID-19 monoclonal conjugado con partículas de color para generar el complejo de partícula de color antígeno-anticuerpo. Este complejo migra a través de la membrana por acción capilar hasta la línea de prueba, donde es capturado por el anticuerpo anti-COVID-19 monoclonal de ratón. Si en la muestra se detecta la presencia de antígenos COVID-19, una línea de prueba de color será visible en la ventana de resultado. La intensidad de la línea de prueba de color variará en función de la cantidad de antígeno COVID-19 presente en la muestra. Si en la muestra no se detecta la presencia de antígenos COVID-19, entonces no aparecerá color en la línea de prueba. La línea control se utiliza como control procedimental y aparecerá siempre que el procedimiento de prueba sea desarrollado adecuadamente y los reactivos de la prueba se encuentren operativos.

Estabilidad de la Muestra

Las muestras pueden ser almacenadas a temperatura ambiente hasta 1 hora o entre 2-8°C por hasta 4 horas antes de efectuar la prueba.

Estabilidad del Kit

- Almacene el kit a temperatura ambiente, 2-30°C
- No congelar

Procesamiento

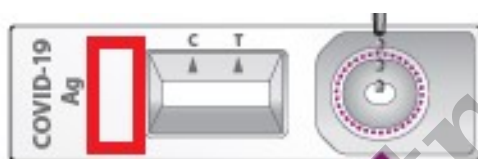
1. La nevera se debe recepcionar en el área en condiciones de refrigeración 2-8 °C, se debe tomar la temperatura con un termómetro para asegurar la estabilidad de las muestras.
2. Sacar todas las muestras de la nevera e ingresarlas a la cabina de bioseguridad.
3. Se debe diligenciar en el formato ID-ADLAB-GU-21-F02 Listado Montajes Prueba Rápida COVID-19 Ag Test el nombre del paciente, la identificación del paciente y la hora de la toma de muestra; estos datos son extraídos del embalaje de la muestra, posteriormente se diligencia la hora de procesamiento.

Nota: Para el procesamiento se debe tener en cuenta la hora de la toma de la muestra y su estabilidad.

4. Se realiza apertura del dispositivo de prueba.



5. Se debe realizar marcaje manual con el nombre del paciente en el cassette.



6. Mezclar la muestra en el Tubo buffer de extracción y depositar 3 gotas de la muestra extraída en el pocillo de muestra del dispositivo de prueba.

7. Colocar lamina sobre la ventana de la reacción.

8. Programar el cronometro y leer el resultado de la prueba entre 15 y 30 minutos.



9. Se deben almacenar las muestras en una Caba en la cabina de bioseguridad esperando facturación por el área de referencia

10. Interpretación de la Prueba

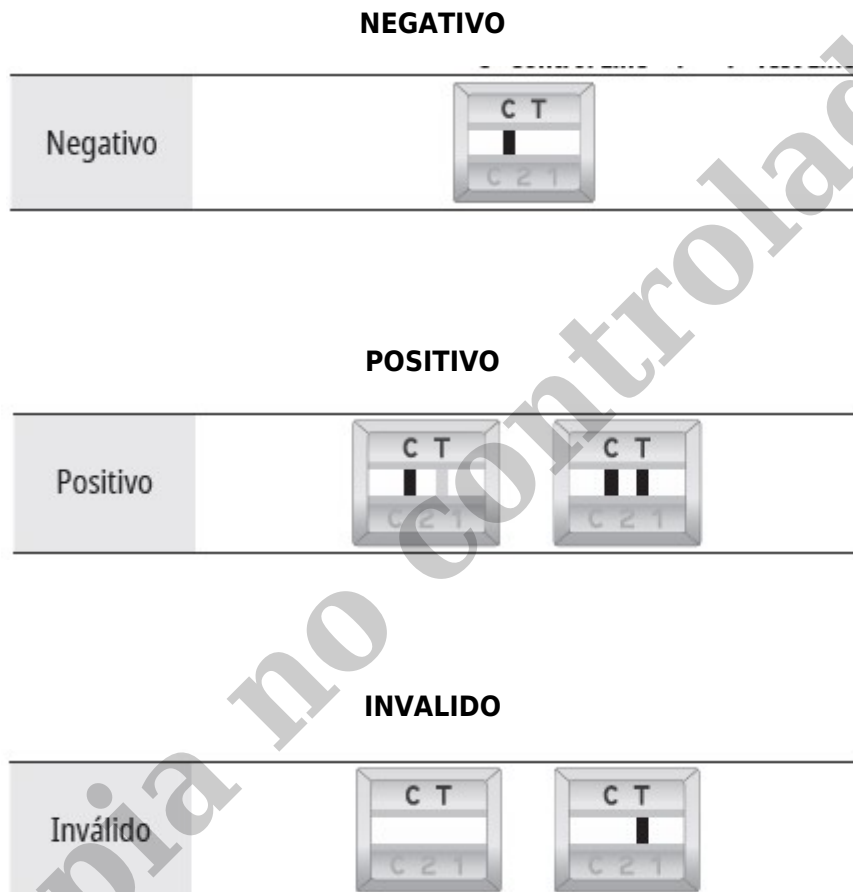
- Una marca de color aparecerá en la sección superior de la ventana de resultado para mostrar que

la prueba funciona adecuadamente. Esta marca es la línea de control (C).

- Una marca de color aparecerá en la sección inferior de la ventana de resultado. Esta marca es la línea de antígeno COVID-19 (T).

- Incluso si la línea control es tenue o la línea de prueba no es uniforme, la prueba debe ser considerada correcta y el resultado de prueba debe ser interpretado como un resultado positivo.

***La presencia de cualquier línea, sin importar si ésta es intensa o tenue, indica que el resultado debe considerarse positivo.**



11. Diligenciar el resultado en el formato ID-ADLAB-GU-21-F02 Listado Montajes Prueba Rápida COVID-19 Ag Test para posterior validación.

Precauciones

1. No reutilice este kit de prueba.
2. No utilice este kit de prueba si la bolsa de aluminio se encuentra dañada o el sello está roto.
3. No utilice el buffer de otro lote.
4. El desecante en la bolsa de aluminio es para absorber la humedad y evitar que esta afecte los productos. Si los gránulos del desecante indicador de humedad han cambiado de amarillo a verde, el dispositivo en la bolsa debe ser desechado.

5. Los resultados positivos deben ser considerados en conjunto con el historial clínico y demás información a disposición del personal médico.

Limitaciones

Puede producirse un resultado negativo si la concentración de antígeno en una muestra está por debajo del límite de detección de la prueba, por lo tanto, un resultado negativo no elimina la posibilidad de SARS-CoV-2 infección, y debe confirmarse mediante cultivo viral o un ensayo molecular o ELISA.

PRUEBA RÁPIDA 2019-nCoV IgG / IgM

Uso previsto

Se basa en una prueba inmunocromatográfica rápida. Es utilizado para la detección de anticuerpos IgG e IgM del coronavirus (2019-Ncov) en suero que ofrece una referencia de diagnóstico para COVID-19.

Introducción

El coronavirus es un tipo de virus de ARN de cadena positiva monocatenario con una envoltura. Tiene un diámetro de aproximadamente 60 a 220 nm y está ampliamente presente entre humanos y otros mamíferos. El periodo de incubación de COVID-19 varía de 2 a 14 días después de la exposición, y la mayoría de los casos muestran síntomas aproximadamente de 4 a 5 días después de la exposición. Los síntomas más comunes son fiebre, tos, mialgia o fatiga.

El diagnóstico definitivo de COVID-19 implica la detección directa de SARS-CoV-2 por la tecnología de amplificación de ácido nucleico (NAAT). Los ensayos serológicos pueden contribuir a la identificación de individuos expuestos al virus y evaluar el grado de exposición de una población y, por lo tanto, podrían ayudar a decidir sobre la aplicación o relajación de las medidas de contención.

Principio

Este producto utiliza inmunocromatografía de oro coloidal de captura para detectar anticuerpos IgG y IgM específicos de proteínas 2019-nCoV en muestras de suero. El marcaje coloidal de oro se usó para marcar la proteína nucleocápside y el anticuerpo IgG de conejo. El complejo antígeno-oro coloidal y el complejo de oro IgG de conejo-anticuerpo coloidal se revistieron sobre una alnohadilla de oro coloidal. La línea de detección (IgG), la línea de detección (IgM) y la línea de control de calidad (línea C) se revistieron con IgG antihumana de ratón (IgG), IgM anti-humana de ratón (IgM M)

y anticuerpo IgG anti-conejo de cabra (IgG), respectivamente.

Si la prueba es positiva para el anticuerpo IgG, el anticuerpo IgG de la muestra formara un complejo inmune con el antígeno coloidal marcado con oro, el complejo avanzara a lo largo de la tira bajo la acción cromatográfica pasando la línea de detección inmune IgG y reaccionara con el anticuerpo anti-IgG de ratón precubierto para mostrar una banda roja. El control de la prueba se generará cuando el anticuerpo IgG de conejo coloidal marcado con oro forme un complejo con el anticuerpo IgG anti-conejo de cabra mostrando una banda roja en la línea de control (C).

Si la prueba es positiva para el anticuerpo IgM, el anticuerpo IgM de la muestra formara un complejo inmune con el antígeno coloidal marcado con oro, el complejo avanzara a lo largo de la tira bajo la acción cromatográfica pasando la línea de detección inmune IgM y reaccionara con el anticuerpo anti-IgM de ratón precubierto para mostrar una banda roja. El control de la prueba se generará cuando el anticuerpo IgG de conejo coloidal marcado con oro forme un complejo con el anticuerpo IgG anti-conejo de cabra mostrando una banda roja en la línea de control (C).

La línea control (C) deberá mostrar una banda roja cuando se utilice la prueba este servira como estandar para el control interno de la prueba cromatográfica y del reactivo. Si ambos anticuerpos IgG y IgM son positivos en la muestra del test, el complejo inmune forma banda roja aparecerá al pasar por la línea de teste (IgG) y la línea de test (IgM).

Almacenamiento de la Prueba

1. La prueba debe almacenarse de 2-30 °C en un lugar oscuro y seco durante 18 meses. No congelar.
2. Se recomienda usar el cassette de prueba dentro de las 0,5 horas después de la apertura de la bolsa.
3. Consulte las etiquetas para verificar la fecha de producción y la fecha de vencimiento del kit

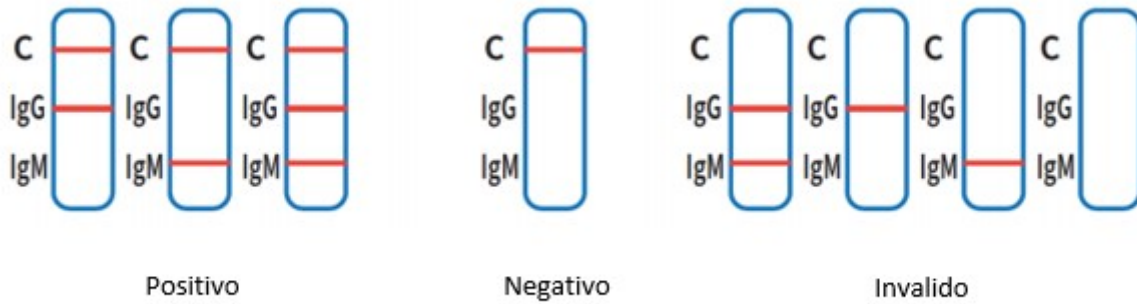
Almacenamiento de la Muestra

1. Se puede almacenar de 2-8 °C hasta 5 días. Para almacenamiento prolongado, almacenar las muestras a -20 °C hasta 12 meses, se debe tener en cuenta que la muestra se puede congelar máximo 5 veces.

Procesamiento del Test

1. Coloque el Cassete en una superficie plana y limpia, dispense 10 µL de suero lentamente en la almohadilla de la muestra.
2. Adicione 60 µL (2 gotas) de la solución de dilución en la almohadilla de muestra.
3. Leer los resultados después de 10 minutos (no más de 20 minutos).
4. Registre en ID-ADLAB-GU-21-F01 Hoja de Trabajo Serologías.

Interpretación de Resultados



IgG Positivo (+):	Presencia de dos líneas rojas, línea de prueba (G) y línea de control (C), indica los anticuerpos IgG 2019-nCOV presentes en las muestras.
IgM Positivo (+):	Presencia de dos líneas rojas, línea de prueba (M) y línea de control (C), indica los anticuerpos IgM 2019-nCOV presentes en las muestras.
IgG + IgM Positivo (+):	Presencia de tres líneas rojas, línea de prueba (M), línea de prueba (G) y línea de control (C), indica los anticuerpos IgM e IgG 2019-nCOV presente en muestras.
Negativo (-):	Apariencia de una sola línea de control (C), sin línea de prueba roja (G) sin línea roja de prueba (M), indica la ausencia de IgM 2019-Ncov y anticuerpos IgG presentes en las muestras.
Invalido:	No aparece la línea roja de control (C). Los resultados no válidos pueden deberse a funcionamiento incorrecto o pérdida de eficacia en las pruebas. Repetir la prueba en primer lugar, si el problema persiste, deje de usar productos en el mismo lote número y contacto con el distribuidor local para obtener asistencia.

- Sensibilidad anticuerpos **G**: 89.19%
- Especificidad anticuerpos **G**: 96.26%
- Sensibilidad anticuerpos **M**: 87.83%
- Especificidad anticuerpos **M**: 95.32%

Nota: Para el proceso de validación se debe colocar las siguientes nota si se obtiene resultado IgM positivo o resultado IgG e IgM positivo se debe colocar: **Se sugiere realizar RT-PCR para la detección de SARS CoV-2.**

Control de calidad:

Verificar que la banda de autocontrol valide el procesamiento de la prueba. Cada vez que abra una caja de pruebas rápidas para COVID-19 , procese una muestra de COVID-19 positiva y negativa procesada por RT-PCR previamente.

Flujogramas para el procedimiento diagnóstico

Flujograma 1. Proceso diagnóstico en personas atendidas en servicios de urgencias y hospitalización.

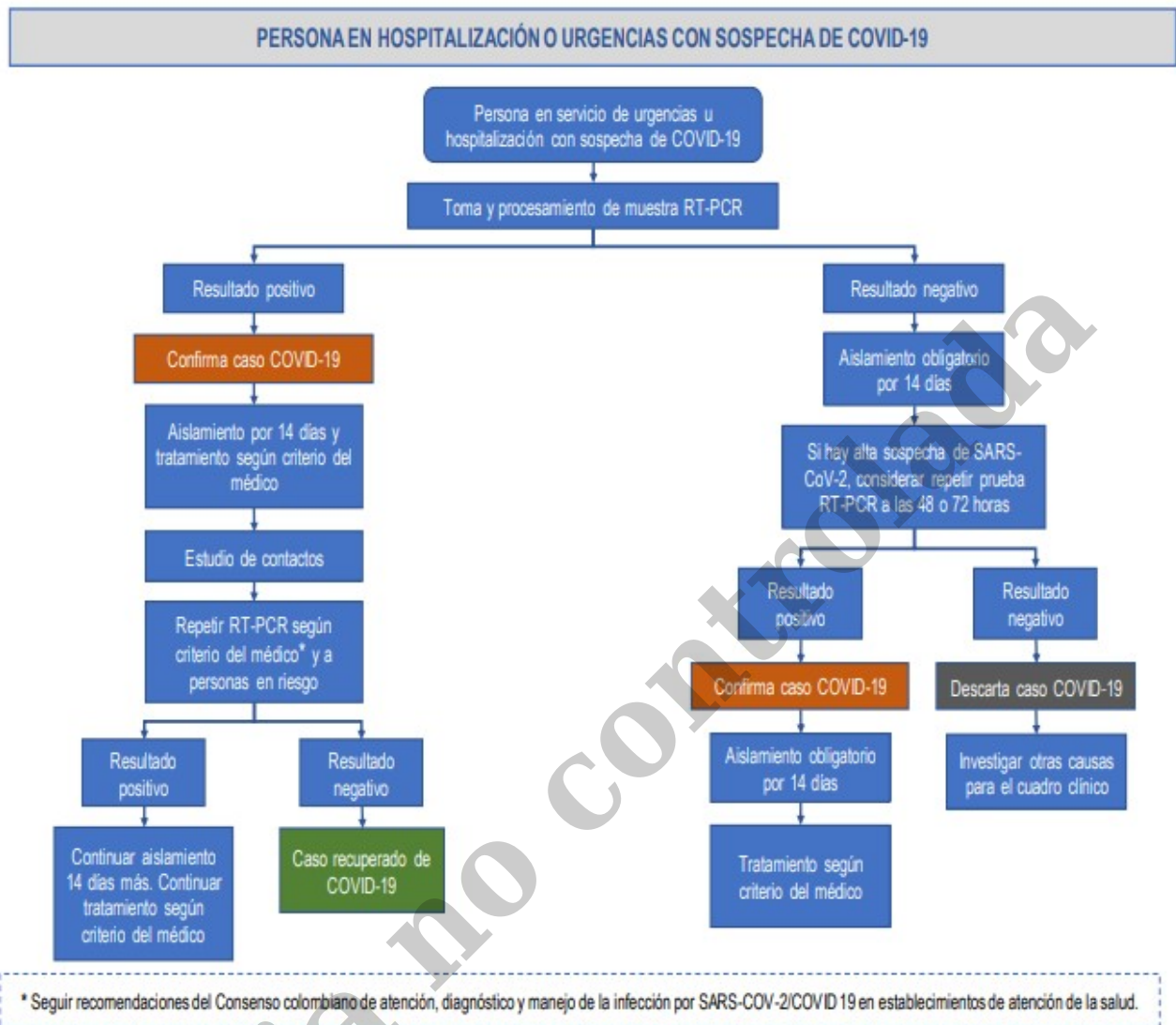


Imagen extraída de documento externo ID-ADLAB-GU-21-DE-01 LINEAMIENTOS PARA EL USO DE PRUEBAS MOLECULARES RT-PCR Y PRUEBAS SEROLÓGICAS DE ANTICUERPOS PARA SARS-CoV-2 (COVID-19) EN COLOMBIA

Flujograma 2. Proceso diagnóstico en personas atendidas en servicios ambulatorios y en domicilio.

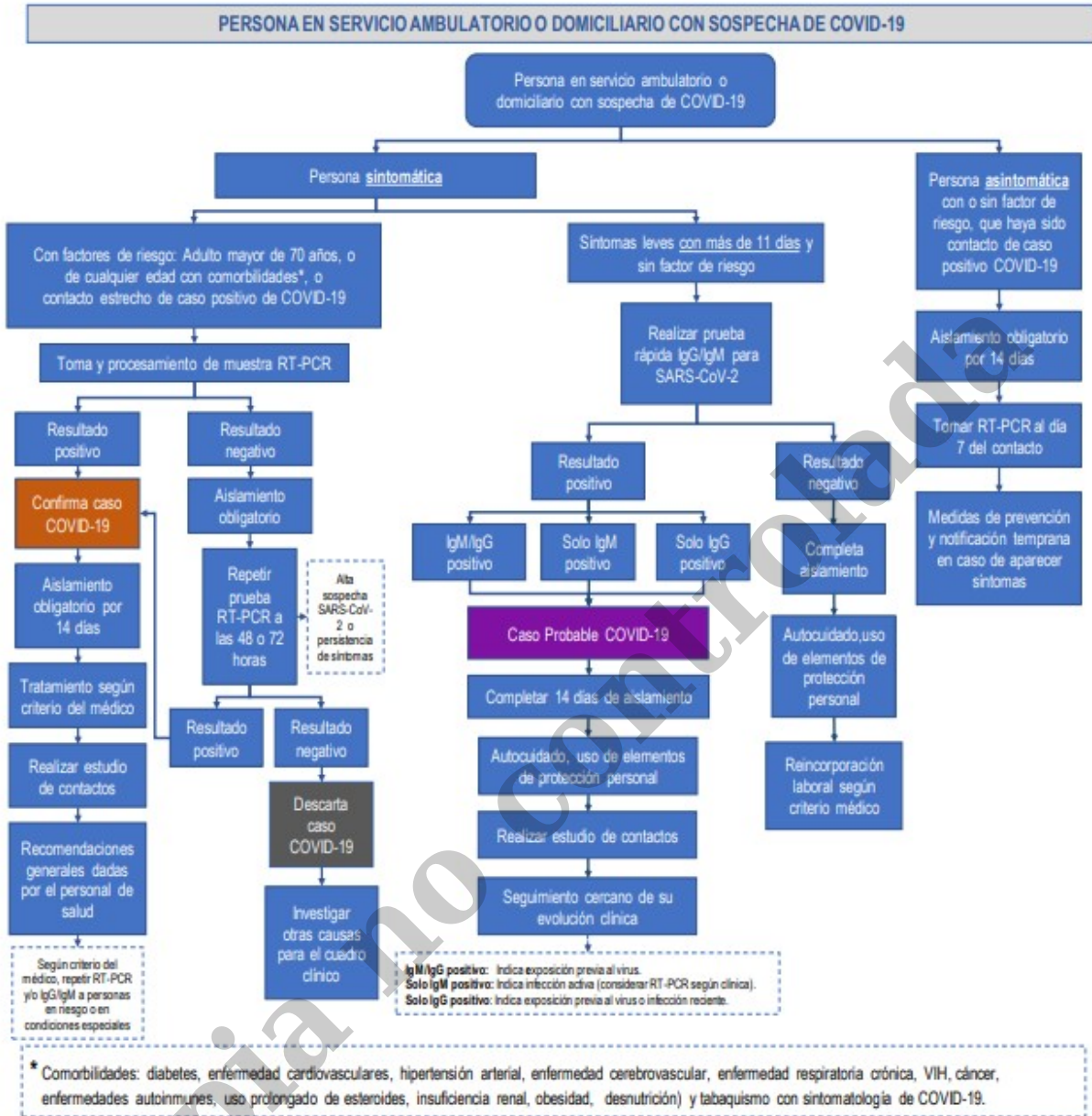
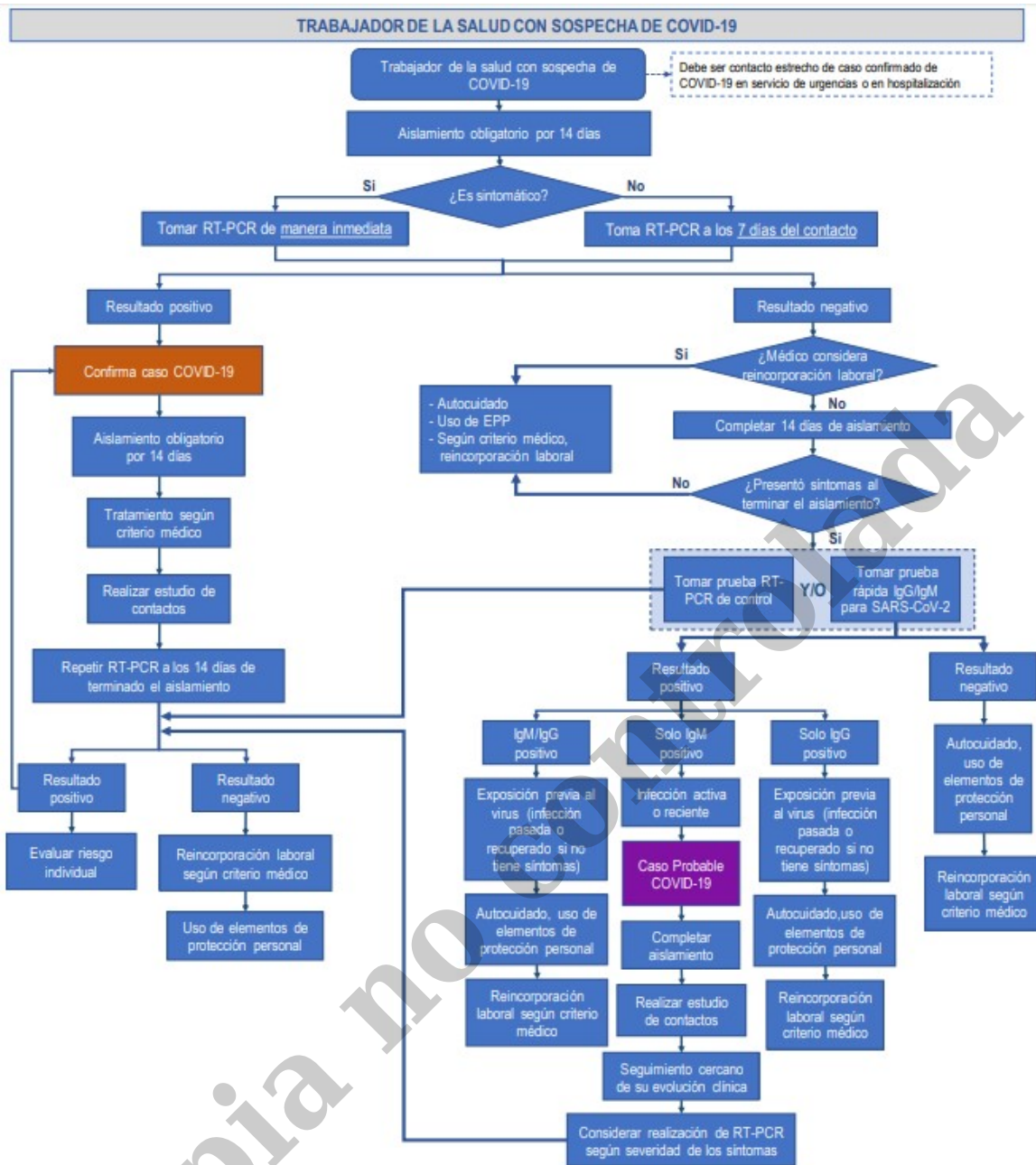


Imagen extraída de documento externo ID-ADLAB-GU-21-DE-01 LINEAMIENTOS PARA EL USO DE PRUEBAS MOLECULARES RT-PCR Y PRUEBAS SEROLÓGICAS DE ANTICUERPOS PARA SARS-CoV-2 (COVID-19) EN COLOMBIA

Flujograma 3. Proceso diagnóstico en trabajadores de la salud.

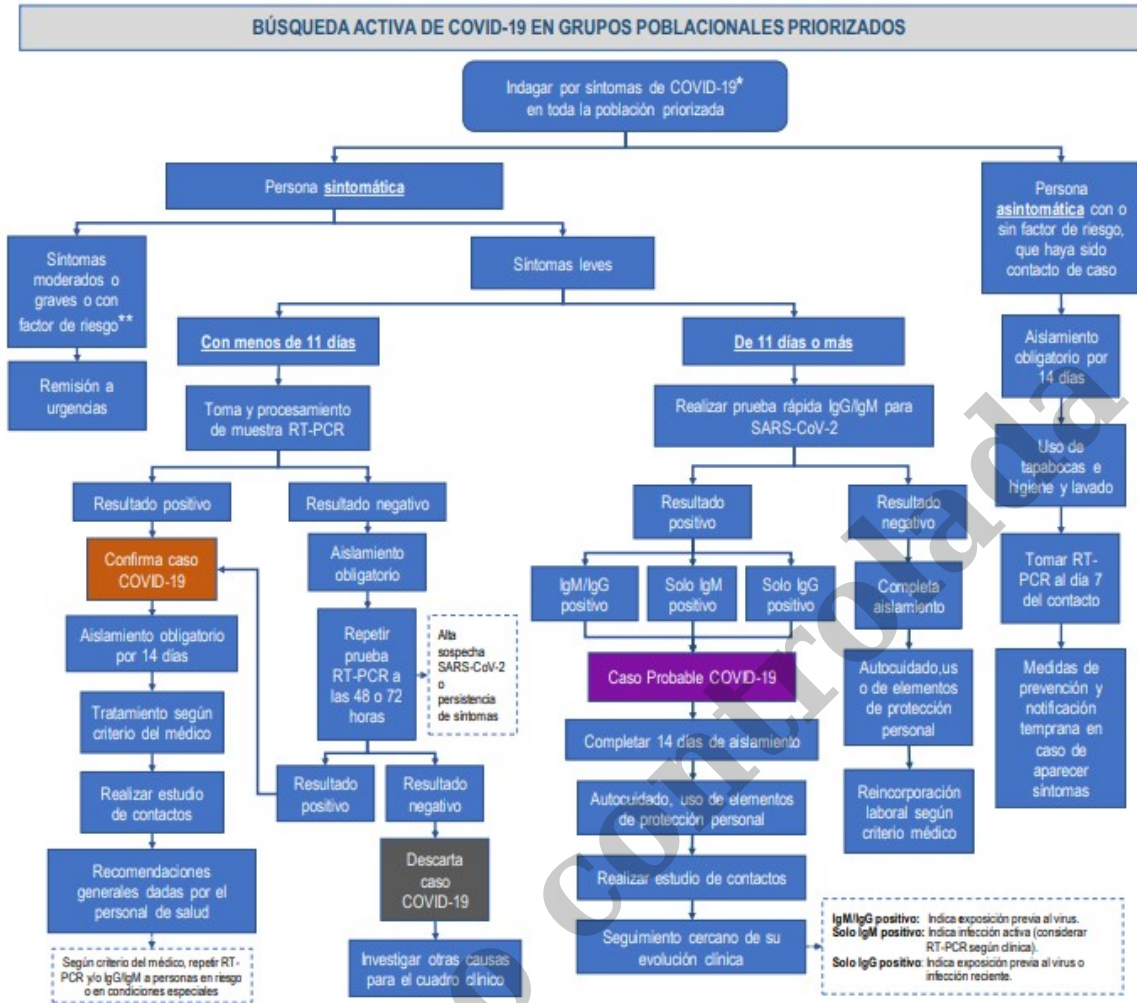


* Las muestras de trabajadores de la salud deberán marcarse como de prioridad sanitaria y entregarse en el laboratorio que realiza la lectura en un embalaje separado de las demás muestras regulares.

* Se debe tener registro de los contactos en el ámbito hospitalario e identificar las cadenas de transmisión institucionales, como medida de control de brotes.

Imagen extraída de documento externo ID-ADLAB-GU-21-DE-01 LINEAMIENTOS PARA EL USO DE PRUEBAS MOLECULARES RT-PCR Y PRUEBAS SEROLÓGICAS DE ANTICUERPOS PARA SARS-CoV-2 (COVID-19) EN COLOMBIA

Flujograma 4. Búsqueda activa en grupos poblacionales priorizados.



* Se considera sintomático de COVID-19 una persona con uno o más de los siguientes síntomas: fiebre, tos, dificultad respiratoria, odinofagia y/o fatiga/astenia. Estos síntomas pueden acompañarse o no de síntomas gastrointestinales como diarrea, vómitos, dolor abdominal y otros como disgeusia o anosmia. (Adaptado del Consenso Colombiano de Atención, diagnóstico y manejo de la infección por SARS-CoV-2/COVID-19 en establecimientos de atención de la salud - marzo 2020 y definiciones de caso del INS).

** Comorbilidades: diabetes, enfermedad cardiovasculares, hipertensión arterial, enfermedad cerebrovascular, enfermedad respiratoria crónica, VIH, cáncer, enfermedades autoinmunes, uso prolongado de esteroides, insuficiencia renal, obesidad, desnutrición) y tabaquismo con sintomatología de COVID-19.

Imagen extraída de documento externo ID-ADLAB-GU-21-DE-01 LINEAMIENTOS PARA EL USO DE PRUEBAS MOLECULARES RT-PCR Y PRUEBAS SEROLÓGICAS DE ANTICUERPOS PARA SARS-CoV-2 (COVID-19) EN COLOMBIA

SIFILIS RPR TEST

Prueba rápida para la determinación cualitativa y cuantitativa de anticuerpos reaginicos en suero o plasma.

Principio

Sífilis RPR test es una prueba de aglutinación no-treponemica que se usa para detectar y cuantificar anticuerpos reaginicos .La presencia de estos anticuerpos corresponde a un diagnostico presuntivo de sífilis. El antígeno usado en este análisis es una modificación del antígeno VDRL el cual tiene microparticulas de carbón para aumentar la diferencia visual entre el resultado positivo y uno negativo .Si una muestra contiene anticuerpos anti-reaginicos , se observa una aglutinación de las partículas antígeno-carbón. En muestras no reactivas, la suspensión muestra-antígeno tiene apariencia homogénea.

KIT



Estabilidad:

Estable hasta su fecha de vencimiento almacenadas de 2 a 8°C. No congelar .

Muestra

Plasma, suero inactivado o no inactivado por calor .Las muestras deben estar libres de contaminación y no hemolisadas.

Las muestras de suero fresco se pueden almacenar a una temperatura de 2 a 8°C por 5 días o a -20°C por 4 semanas.

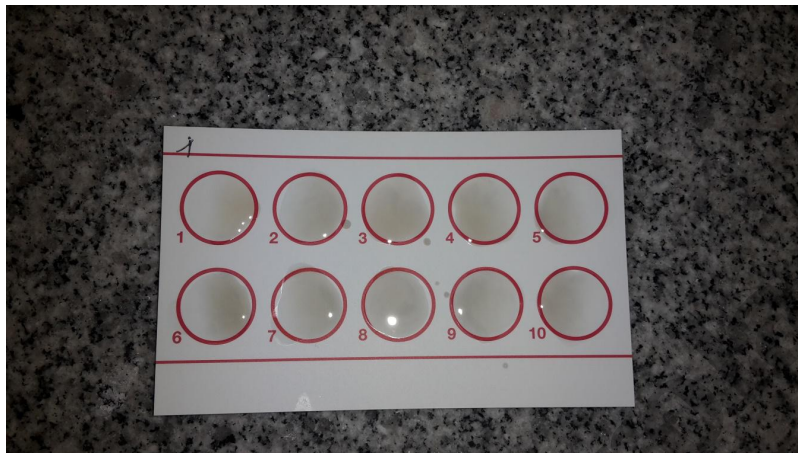
Peocedimiento

• PRUEBA CUALITATIVA

- 1- Llevar los reactivos de control de calidad y el antígeno a temperatura ambiente.
- 2- Mezclar muy bien el reactivo del antígeno y sacar por succión la suspensión directamente con la aguja colocada en el frasco dispensador
- 3- Colocar una gota con las pipetas desechables o 50 microlitros de la muestra , en cada uno de los pozos de la tarjeta , luego adicionar la misma cantidad de reactivo (1 gota 0 50 micro litros) antígeno

y de control positivo y negativo a los mismos pozos , esparcir la superficie total de las áreas , hasta cubrir el círculo de la tarjeta.

4- Colorar en agitador rotatorio automático a 100 rpm por 8 minutos.



Interpretación de los resultados:

Inmediatamente después de los 8 minutos de rotación leer los resultados macroscópicamente a la luz directa .Un resultado reactivo se indica por aglutinación gruesa en el centro y la periferia del círculo de la prueba. Las muestras débilmente reactivas producirán pequeñas aglutinaciones alrededor del eje o al borde del área de ensayo.

Un resultado negativo (no reactivo) muestra una suspensión de apariencia homogénea sin aglutinación visible. Las muestras con resultados positivos deben analizarse nuevamente empleando método semi-cuantitativo

• PRUEBA CUANTITATIVA

Preparar las diluciones de las muestras con solución salina fisiológica NaCl 0,9% como se indica: 50 ul de solución salina y 50 ul de suero en el primer pozo de la tarjeta luego hacer diluciones seriadas y 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 ,1:32. adicionar una gota del antígeno en cada uno de los pozos , Inclinarse la tarjeta de atrás hacia adelante lentamente por **8 minutos** o colorar en agitador rotatorio automático a 100 rpm por 8 minutos.

Observar la presencia o ausencia de la aglutinación transcurrido dicho tiempo. Y reportar como reactiva hasta las diluciones en las que se presenta aglutinacion .

NO SE REPORTA 0 DILS SE REPORTA 1 DILS

Interpretación de los resultados

La última dilución que presenta aglutinación macroscópica indica el título de la muestra. Si la última

dilución da un resultado positivo la dilución en serie debería ser aumentada 1:64, 1:128 y así sucesivamente

Control de calidad

El control positivo y negativo deben ser incluidos en cada serie de muestras que se analizan comparando sus resultados esperados con los resultados de las muestras.

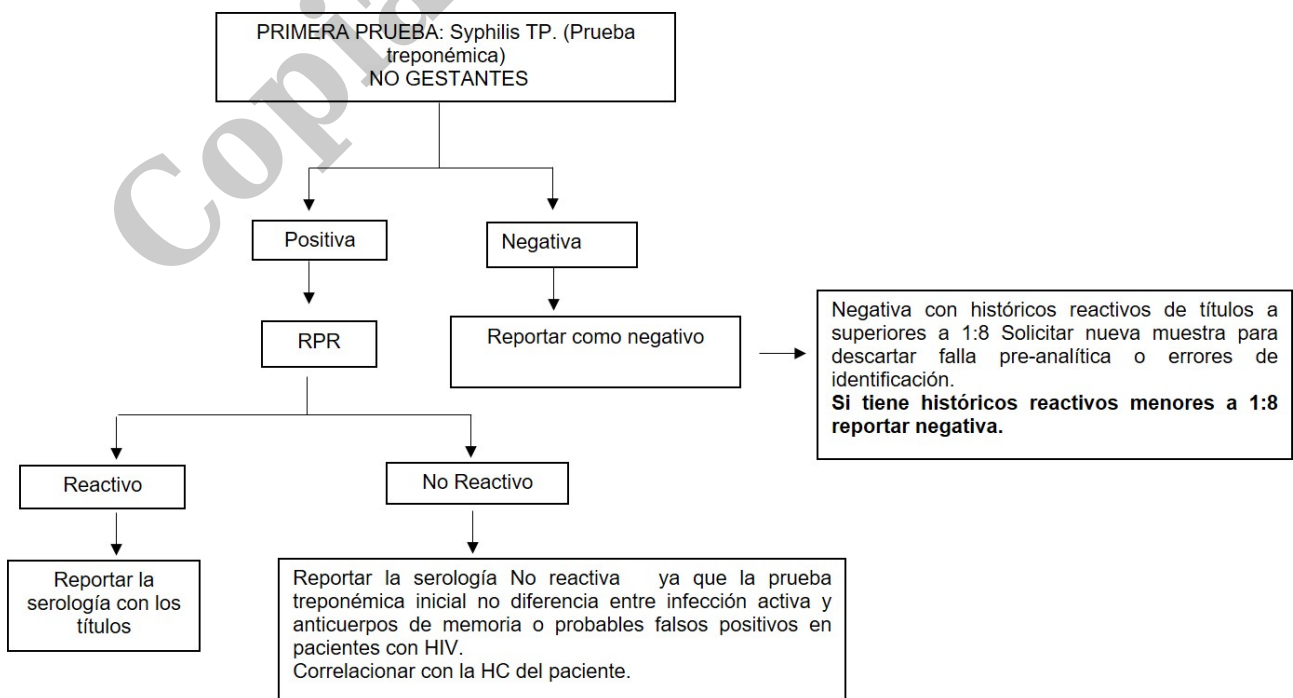
Diligenciar el formato ID-ADLAB-MN-01-F16 Control Calidad Prueba de Serologías 1, colocando en la casilla de control positivo la última dilución a la que se obtuvo aglutinación con el control

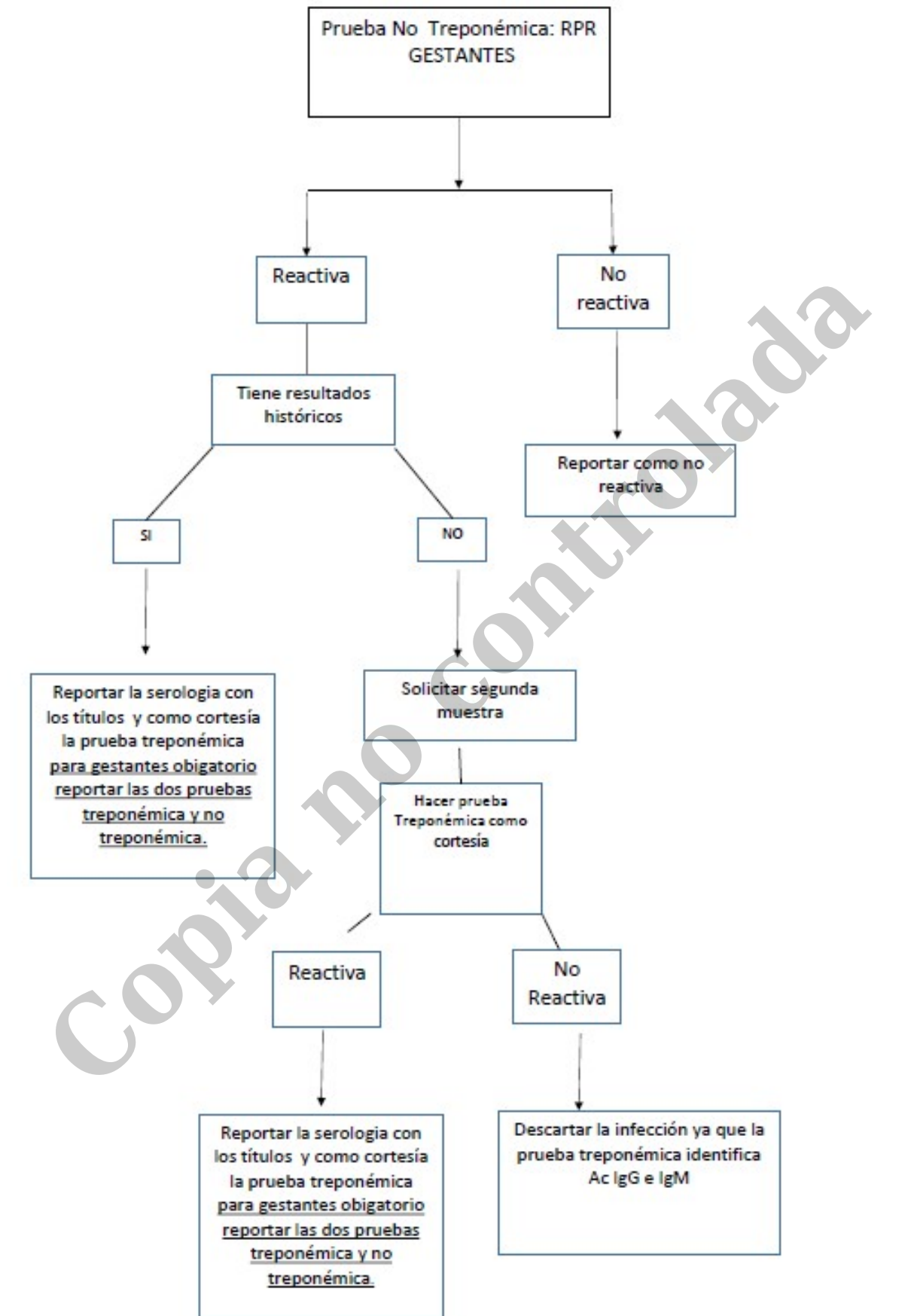
Falsos positivos:

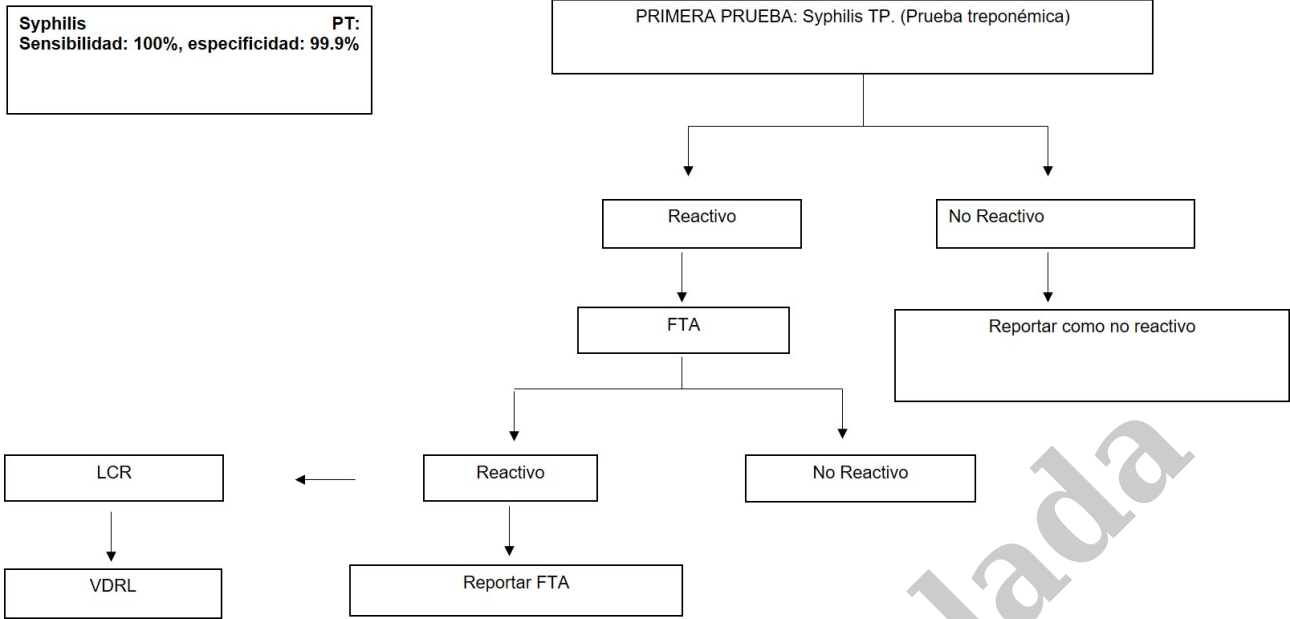
- Enfermedades como lepra .lupus eritematoso, mononucleosis infecciosa, malaria, neumonía viral y viruela. Se debe confirmar con una prueba confirmatoria
- Suero contaminado o un tiempo extendido de reacción
- No lavar y cambiar constantemente la aguja y el frasco dosificador.

Nota: El registro de los resultados se lleva a través del formato ID-ADLAB-GU-21-F01 Hoja de Trabajo Serologías.

Algoritmo Sifilis







PCR

Principio:

La Proteína C Reactiva (PCR) es una proteína termolábil que no atraviesa la barrera placentaria y cuya movilidad electroforética se encuentra entre las zonas de la α y el β globulinas. Su nombre se debe a la capacidad para precipitar los polisacáridos C de los pneumococos. Es una de las llamadas proteínas de fase aguda y se incrementa en suero, en una gran variedad de enfermedades inflamatorias o como respuesta a necrosis tisular. Su determinación es importante debido a que aumenta rápidamente al comienzo de la enfermedad, 14 a 26 horas luego de la inflamación o injuria tisular y desaparece en la etapa de recuperación, apareciendo sólo durante la fase activa del proceso inflamatorio.

La PCR se encuentra comúnmente aumentada en: artritis reumatoidea activa, infecciones virales, tuberculosis, fiebre reumática activa, infarto agudo de miocardio, etc. También se la puede hallar luego de una operación quirúrgica y en gran porcentaje luego de transfusiones sanguíneas. La determinación de PCR no sólo indica la intensidad de la enfermedad sino también la respuesta del paciente a un tratamiento dado.

El reactivo Latex PCR es una suspensión de partículas de látex de poliestireno de tamaño uniforme sensibilizadas con la fracción globulinica de un suero específico anti-PCR humana. Las partículas de latex ponen de manifiesto la reacción antígeno - anticuerpo (PCR -IgG anti - PCR). Si debido a la presencia de PCR reactiva en el suero, la suspensión látex se aglutina.

KIT



Estabilidad

Estable hasta su fecha de vencimiento almacenadas de 2 a 8°C. No congelar, homogenizar el reactivo antes de usar.

Muestra

Suero fresco centrifugado. Las muestras deben estar libres de contaminación y no hemolisadas.

Las muestras de suero fresco se pueden almacenar a una temperatura de 2 a 8°C por 5 días o a -20°C por 4 semanas.

Procedimiento

.Controlar el reactivo latex con el control positivo y negativo, incluido en el kit

-Los resultados deben ser visibles de aglutinación y no aglutinación. De lo contrario repetir la prueba o cambiar el kit.

• PRUEBA CUALITATIVA

- 1- Llevar los reactivos de control de calidad y el antígeno a temperatura ambiente.
- 2- Mezclar suavemente el antígeno para resuspender las partículas latex en la solución tampón
- 3- Dosificar 50ul de suero en una de las secciones de las tarjetas y añadir una gota del reactivo junto a la gota de suero.
- 4- Mezclar ambas gotas con un palillo cubriendo toda la superficie de la sección de la tarjeta.
- 5- Agitar la tarjeta con un suave movimiento de rotación ya sea manualmente o en agitador de 60 a 80 rpm durante 2 minutos
- 6- Observar la presencia o ausencia de aglutinación transcurrido dicho tiempo



Interpretación de resultados:

La presencia de aglutinación indica un contenido de proteína C reactiva en el suero igual o superior a 6 mg/l.

La ausencia de aglutinación indica un contenido de proteína C reactiva en el suero inferior a 6 mg/l.

Reacciones Positivas.

- 3+ Agregados grandes sobre fondo transparente
- 2+ Agregados moderados sobre fondo ligeramente opaco
- 1+ Agregados finos sobre fondo opaco

Reacciones Negativas.

Ausencia de agregados, suspensión uniforme

• PRUEBA CUANTITATIVA

Preparar las diluciones de las muestras con solución salina fisiológica NaCl 0,9% como se indica: 50 ul de solución salina y 50ul de suero en el primer pozo de la tarjeta luego hacer diluciones seriadas y 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, adicionar una gota del reactivo latex en cada uno de los pozos, agitar la tarjeta con un suave movimiento de rotación ya sea manualmente o en agitador de 60 a 80 rpm durante 2 minutos.

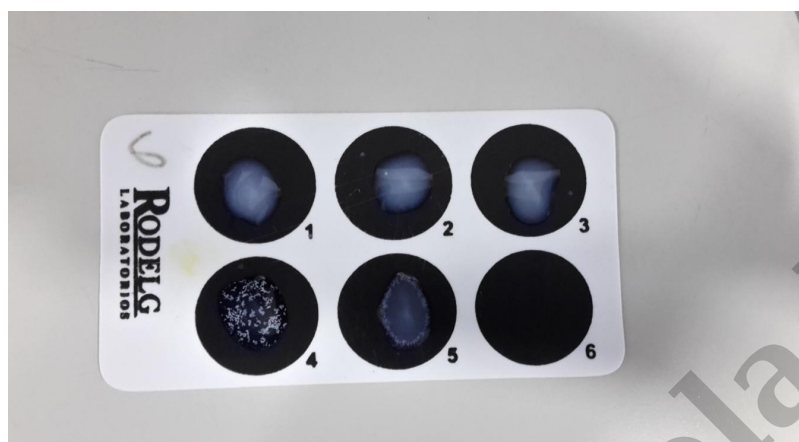
Observar la presencia o ausencia de la aglutinación transcurrido dicho tiempo

Interpretación de resultados

La última dilución que presenta aglutinación macroscópica indica el título de la muestra. Si la última dilución da un resultado positivo la dilución en serie debería ser aumentada 1:64, 1:128 y así

sucesivamente

El resultado de la dilución se multiplica por el factor de dilución que es 6 ejemplo: si el resultado de la dilución es reactivo hasta 1:4 el resultado sería $4 \times 6 = 24$ mg/l



Falsos positivos:

-La lectura de resultados debe efectuarse a los 2 minutos de iniciada la reacción el excederse a los 3 minutos puede inducir a la interpretación errónea de los mismos

-Los sueros con una alta concentración de factor reumatoideo pueden elevar fácilmente los títulos de PCR

Control de calidad

El control positivo y negativo deben ser incluidos en cada serie de muestras que se analizan comparando sus resultados esperados con los resultados de las muestras.

Diligenciar el ID-ADLAB-MN-01-F16 Control Calidad Prueba de Serologías 1, colocando en la casilla de control positivo la última dilución a la que se obtuvo aglutinación con el control

REHUMA RF

Principio

Los factores reumatoideos (FR) son un grupo de anticuerpos tipo IgM (aunque también se ha descrito la presencia de IgG e IgA) que reaccionan contra el fragmento Fc de las moléculas IgG. Los FR aparecen principalmente en el suero de pacientes con artritis reumatoide pero también otras enfermedades pueden producir FR: procesos inflamatorios crónicos, enfermedades infecciosas como endocarditis bacteriana subaguda, malaria, sífilis, lepra, leishmaniasis, tuberculosis y variedad de enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico⁶. El diagnóstico clínico no debe

realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

El reactivo Latex RF es una suspensión de partículas de latex de poliestireno de tamaño uniforme sensibilizadas con la fracción globulinica humana. Las partículas de latex ponen de manifiesto la reacción antígeno - anticuerpo. Si debido a la presencia de factor reumatoide reactiva en el suero, la suspensión latex se aglutina.

Los resultados están expresados en unidades internacionales por ml (UI/ml) de acuerdo con la preparación internacional de referencia de suero de artritis reumatoide.

KIT



Estabilidad:

Estable hasta su fecha de vencimiento almacenadas de 2 a 8°C. No congelar , homogenizar el reactivo antes de usar.

Muestra

Suero fresco centrifugado .Las muestras deben estar libres de contaminación y no hemolisadas.

Las muestras de suero fresco se pueden almacenar a una temperatura de 2 a 8°C por 5 días o a -20°C por 4 semanas

Procedimiento

-Controlar el reactivo latex con el control positivo y negativo, incluido en el kit

-Los resultados deben ser visibles de aglutinación y no aglutinación. De lo contrario repetir la prueba o cambiar el kit.

• PRUEBA CUALITATIVA

1- Llevar los reactivos de control de calidad y el antígeno a temperatura ambiente.

2- Mezclar suavemente el antígeno para resuspender las partículas latex en la solución tampón

3-Dosificar 50ul de suero en una de las secciones de las tarjetas y añadir una gota del reactivo junto a la gota de suero.

4- Mezclar ambas gotas con un palillo cubriendo toda la superficie de la sección de la tarjeta.

5-Agitar la tarjeta con un suave movimiento de rotación ya sea manualmente o en agitador de 80 a

100 rpm durante 2 minutos

6- Observar la presencia o ausencia de aglutinación transcurrido dicho tiempo



Interpretación de resultados:

La presencia de aglutinación indica un contenido de factor reumatoideo reactiva en el suero igual o superior a 8 mg/ l.

La ausencia de aglutinación indica un contenido de factor reumatoideo reactiva en el suero inferior a 8 mg/l.

Reacciones Positivas:

3+ Agregados grandes sobre fondo transparente

2+ Agregados moderados sobre fondo ligeramente opaco

1+ Agregados finos sobre fondo opaco

Reacciones Negativas:

Ausencia de agregados, suspensión uniforme

• PRUEBA CUANTITATIVA

Preparar las diluciones de las muestras con solución salina fisiológica NaCl 0,9% como se indica: 50 ul de solución salina y 50ul de suero en el primer pozo de la tarjeta luego hacer diluciones seriadas y 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 ,1:32 , adicionar una gota del reactivo latex en cada uno de los pozos , agitar la tarjeta con un suave movimiento de rotación ya sea manualmente o en agitador de 60 a 80 rpm durante 2 minutos.

Observar la presencia o ausencia de la aglutinación transcurrido dicho tiempo.

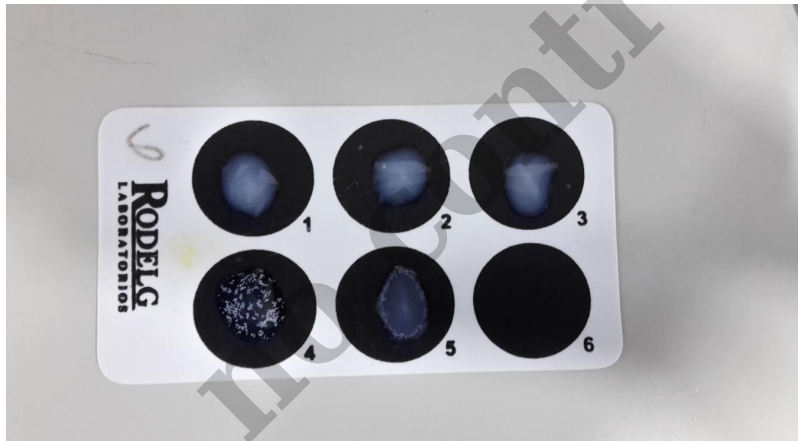
Interpretación de resultados

La última dilución que presenta aglutinación macroscópica indica el título de la muestra. Si la última dilución da un resultado positivo la dilución en serie debería ser aumentada 1:64, 1:128 y así sucesivamente

El resultado de la dilución se multiplica por el factor de dilución que es 8 ejemplo: si el resultado de la dilución es reactivo hasta 1:4 el resultado sería $4 \times 8 = 32\text{mg/l}$

Falsos positivos:

-La lectura de resultados debe efectuarse a los 2 minutos de iniciada la reacción el excederse a los 3 minutos puede inducir a la interpretación errónea de los mismos



Control de calidad

El control positivo y negativo deben ser incluidos en cada serie de muestras que se analizan comparando sus resultados esperados con los resultados de las muestras.

Diligenciar el formato ID-ADLAB-MN-01-F16 Control Calidad Prueba de Serologías 1, colocando en la casilla de control positivo la última dilución a la que se obtuvo aglutinación con el control.

REHUMA ASO

Principio

Derivado Anti Strepto Lisinas O, de ahí el nombre. La presencia de títulos altos de antiestreptolisinas

O ó ASLO, indican una infección por la bacteria *Streptococo* beta hemolíticos del tipo A, que puede producir una glomerulonefritis, una fiebre reumática, una endocarditis bacteriana o una escarlatina.

La elevación de ASLO aparece a la semana de la infección por el estreptococo, los valores más elevados se dan en la tercera semana de la infección y es cuando pueden aparecer las enfermedades secundarias a esta infección (glomerulonefritis, fiebre reumática, endocarditis bacteriana o escarlatina) pero no son específicos de ninguna de ellas.

Causas de ASLO alto (ASLO elevado)

- **Faringitis estreptocócica:** La causa más común de la elevación de ASLO es la faringitis estreptocócica, cuyos síntomas son fiebre, dolor abdominal e inflamación de las amígdalas.
- **Endocarditis bacteriana:** Es una infección de las paredes internas del corazón, causada por los estreptococos del grupo A.
- **Glomerulonefritis:** Infección del riñón causada principalmente por *Streptococcus pyogenes* que causa la aparición de proteínas y sangre en la orina, así como la reducción de la capacidad de filtrado del riñón.
- **Fiebre reumática:** Enfermedad inflamatoria autoinmune producida por algunas personas en respuesta al contacto con el estreptococo beta hemolítico. Puede afectar a las articulaciones y al corazón.
- **Escarlatina:** Es una enfermedad infecciosa producida por *Streptococcus pyogenes* del grupo A que afecta sobre todo a niños. En España fue erradicada, pero vuelven a aparecer casos con la llegada de inmigrantes.

El reactivo Latex ASO es una suspensión de partículas de latex de poliestireno de tamaño uniforme sensibilizadas con estreptolisina o. Las partículas de latex ponen de manifiesto la reacción antígeno - anticuerpo. Si hay presencia de antiestreptolisina o la suspensión latex se aglutina dando reactiva la prueba.

Cuando se mezcla el reactivo latex ASO con el suero, si se tiene aproximadamente más de 200 UI/ml de antiestreptolisina o se produce una clara aglutinación



Estabilidad:

Estable hasta su fecha de vencimiento almacenadas de 2 a 8°C. No congelar , homogenizar el reactivo antes de usar.

Muestra:

Suero fresco centrifugado .Las muestras deben estar libres de contaminación y no hemolisadas.

Las muestras de suero fresco se pueden almacenar a una temperatura de 2 a 8°C por 5 días o a -20°C por 4 semanas.

Procedimiento:

Controlar el reactivo latex con el control positivo y negativo, incluido en el kit

Los resultados deben ser visibles de aglutinación y no aglutinación. De lo contrario repetir la prueba o cambiar el kit.

• **PRUEBA CUALITATIVA**

- 1- Llevar los reactivos de control de calidad y el antígeno a temperatura ambiente.
- 2- Mezclar suavemente el antígeno para resuspender las partículas latex en la solución tampón
- 3- Dosificar 50ul de suero en una de las secciones de las tarjetas y añadir una gota del reactivo junto a la gota de suero.
- 4- Mezclar ambas gotas con un palillo cubriendo toda la superficie de la sección de la tarjeta.
- 5- Agitar la tarjeta con un suave movimiento de rotación ya sea manualmente o en agitador de 80 a 100 rpm durante 2 minutos
- 6- Observar la presencia o ausencia de aglutinación transcurrido dicho tiempo.



Interpretación de resultados:

La presencia de aglutinación indica un contenido de Anti Strepto Lisinas O reactiva en el suero igual o superior a 200 mg/ l.

La ausencia de aglutinación indica un contenido de Anti Strepto Lisinas O reactiva en el suero inferior a 200 mg/l.

Reacciones Positivas

3+ Agregados grandes sobre fondo transparente

2+ Agregados moderados sobre fondo ligeramente opaco

1+ Agregados finos sobre fondo opaco.

Reacciones Negativas:

Ausencia de agregados, suspensión uniforme

• PRUEBA CUANTITATIVA

Preparar las diluciones de las muestras con solución salina fisiológica NaCl 0,9% como se indica: 50 ul de solución salina y 50ul de suero en el primer pozo de la tarjeta luego hacer diluciones seriadas y 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 ,1:32 , adicionar una gota del reactivo latex en cada uno de los pozos , agitar la tarjeta con un suave movimiento de rotación ya sea manualmente o en agitador de 60 a 80 rpm durante 2 minutos.

Observar la presencia o ausencia de la aglutinación transcurrido dicho tiempo.

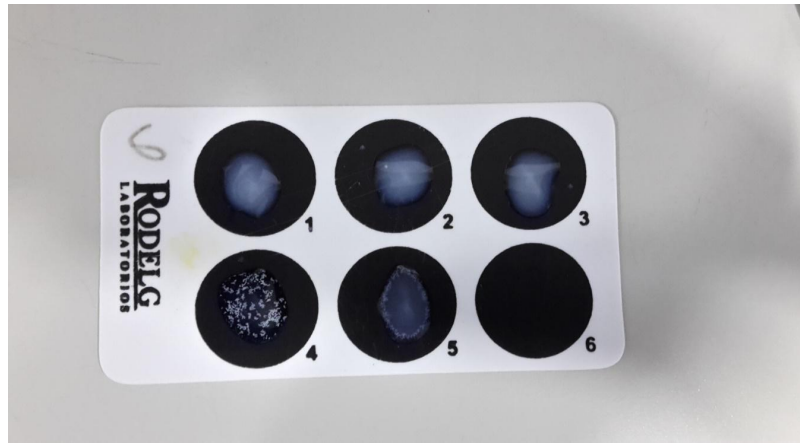
Interpretación de resultados:

La última dilución que presenta aglutinación macroscópica indica el título de la muestra. Si la última dilución da un resultado positivo la dilución en serie debería ser aumentada 1:64, 1:128 y así sucesivamente.

El resultado de la dilución se multiplica por el factor de dilución que es 8 ejemplo: si el resultado de la dilución es reactivo hasta 1:4 el resultado sería $4 \times 200 = 32\text{mg/l}$

Falsos positivos:

-La lectura de resultados debe efectuarse a los 2 minutos de iniciada la reacción el excederse a los 3 minutos puede inducir a la interpretación errónea de los mismos.



Control de calidad

El control positivo y negativo deben ser incluidos en cada serie de muestras que se analizan comparando sus resultados esperados con los resultados de las muestras.

Diligenciar el formato ID-ADLAB-MN-01-F16 Control Calidad Prueba de Serologías 1, colocando en la casilla de control positivo la última dilución a la que se obtuvo aglutinación con el control.

PRUEBA DE EMBARAZO Hcg

Principio

La Gonadotropina Coriónica humana (hCG) es una hormona glucoproteica producida por la placenta en desarrollo poco después de la fertilización. En un embarazo normal, el hCG puede ser detectado en ambos: orina y suero o plasma tan temprano como de 7 a 10 días después de la concepción. Los niveles de hCG continúan aumentando muy rápidamente, superando las 100 mUI/ml tras la primera falta. Los niveles de hCG continúan aumentando muy rápidamente, superando las 100 mUI/ml tras la primera falta. La aparición de hCG en ambos orina y suero o plasma prontamente después de la concepción, y su subsecuente incremento rápido en la concentración durante el crecimiento temprano gestacional, hace un excelente marcador para la detección del embarazo.

La Prueba Rápida de Embarazo hCG en Cassette es una prueba rápida que detecta cualitativamente la presencia de hCG en muestras de orina a la sensibilidad de 25mIU/mL. La prueba utiliza una combinación de anticuerpos monoclonales y policlonales para la detectar selectivamente los niveles de hCG en orina. Con el nivel de sensibilidad mencionado, la Prueba Rápida de Embarazo hCG en Cassette (Suero/Plasma/Orina) no muestra interferencias cruzadas con otras hormonas glucoproteicas estructuralmente relacionadas, FSH, LH y TSH, en niveles fisiológicos alto

La prueba de embarazo de SD BIOLINE contiene una tira de membrana que está impregnada con el anticuerpo de captura de anti - hCG de cabra en la banda de prueba. El conjugado de oro-anticuerpo monoclonal hCG antibeta de ratón y la muestra de orina se mueven cromatográficamente a lo largo de la membrana a la región de prueba (T) y forma una línea visible por el complejo anticuerpo-

antígeno - anticuerpo de oro. El dispositivo de prueba de embarazo tiene una letra T y C como "línea de prueba" "línea de control" en el cassette. Ni la línea de prueba ni la línea de control en la ventana de resultados debe ser visible antes de aplicar la muestra. La línea de control se usa como control de procedimiento. La línea de control siempre deberá aparecer si el procedimiento de la prueba se ha realizado correctamente y los reactivos de la prueba de la línea de control están funcionando correctamente.

Estabilidad

- Estable hasta su fecha de vencimiento almacenadas de 1 a 30°C. No congelar.
- El kit es sensible a la humedad y el calor
- Realice la prueba inmediatamente después de sacar el cassette de la bolsa metálica

Muestra

Orina:

- Orina fresca, la primera de la mañana
- Las muestras de orina que presenten precipitados se centrifugan y se dejan reposar
- Las muestra de orina deben ser refrigeradas en 72 horas.

Suero

Suero fresco centrifugado. Las muestras deben estar libres de contaminación y no hemolisadas.

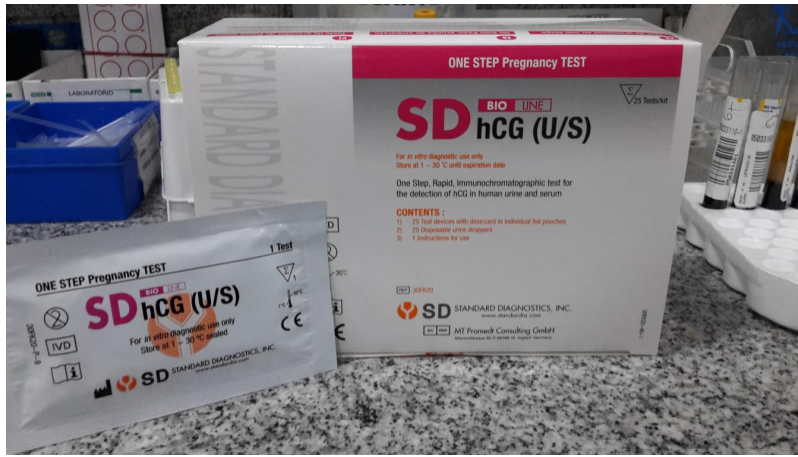
Las muestras de suero fresco se pueden almacenar a una temperatura de 2 a 8°C por 5 días o a -20°C por 4 semanas.

Las muestra de suero que presenten precipitaciones pueden dar resultados inconsistentes, tales muestras deben ser clarificadas antes de examinadas.

Procedimiento

- Deje a temperatura ambiente la muestra y el kit de la prueba.
- Saque el dispositivo de prueba de la bolsa metálica y colóquelo en una superficie plana y seca
- Sostenga el gotero desechable sobre el dispositivo de prueba, deje caer 3 -4 gotas de suero / orina cerca de 90 a 120ul en el pozo de la prueba. Tenga cuidado de no dejar caer en la ventana de resultados.
- Cuando la prueba empieza a funcionar, usted verá una banda de color púrpura moviéndose a lo largo de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de prueba.

Interprete el resultado de la prueba en 5 minutos



Interpretación de resultados:

1. Una banda de color aparecerá en la sección izquierda de la ventana de resultados para mostrar que la prueba está funcionando apropiadamente. Esta es la banda de control
2. La sección derecha de la ventana de resultados indica los resultados de la prueba. Si aparece otra banda de color en la sección derecha de la ventana de resultados, esta es la banda de prueba.

Resultado negativo: La presencia de una sola banda de color purpura

Resultado positivo: La presencia de dos bandas de color

Falsos positivos:

-Otras hormonas presentes en la muestra como la hormona luteizante , hormona estimuladora de folículo, y la TSH.

-Realizar mal el montaje de la prueba.





NEGATIVO POSITIVO

Nota: Todas las pruebas debilmente positivas, pruebas de ingreso laboral positivas, pruebas positivas de pacientes particulares que no cuentan con datos clínicos para realizar correlación clínica y/o los datos clínicos no concuerdan con el resultado (terapia hormonal, fecha de menstruación, edad y diagnosticos) se deben confirmar con la prueba **HCG-BETA**. **Para la validación de la prueba se debe colocar el resultado de la prueba rapida y en nota de resultados colocar el resultado obtenido en la prueba **HCG-BETA** junto con la nota resultado confirmado con prueba HCG-BETA de cortesía.**

Control de calidad:

Verificar que la banda de autocontrol valide el procesamiento de la prueba. Cada vez que abra una caja de pruebas rápidas de embarazo, procese una muestra de HCG positiva y negativa procesada por quimioluminiscencia previamente

DROGAS DE ABUSO

MULTIDROGAS.

Principio:

Es una prueba rápida en una sola etapa para la detección cualitativa y de forma simultanea de drogas multiples y sus metabolitos en orina humana.

Es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección de diferentes drogas de abuso, se basa en uniones competitivas, las drogas presentes que pueden estar en la muestra de orina compiten frente a los respectivos conjugados de las drogas por los puntos de unión al anticuerpo.

Durante la prueba la muestra migra hacia arriba por acción capilar, la droga si se encuentra

presente en la orina en concentración inferior a su punto de corte, no saturara los puntos de unión de las partículas recubiertas de anticuerpo en la placa de prueba. Las partículas recubiertas de anticuerpo serán capturadas por el conjugado inmobilizado de la droga específica y una línea visible de color aparecerá en la zona de la prueba. Esta línea de color no se formará en la zona de prueba si el nivel de la droga está por encima del punto de corte, ya que saturará todos los puntos de unión de los anticuerpos.

Para valoración de la placa existe una zona de control que aparecerá si la prueba se ha realizado correctamente y con un volumen adecuado de muestra. Actualmente se cuenta con un panel multiple de 10 y de 6 pruebas y son las siguientes:

PANEL DE 10:

AMFETAMINAS (AMP)

BARBITURICOS (BAR)

BENZODIAZEPINAS (BZO)

COCAINA (COC)

MARIHUANA (THC)

METADONA (MTD)

METANFETAMINAS (MET)

OPIACEO (OPI)

FENCICLIDINA (PCP)

ANTIDEPRESIVOS TRICICLICLOS (TCA)





PANEL DE 6:

AMFETAMINAS (AMP)

BENZODIAZEPINAS (BZO)

COCAINA (COC)

MARIHUANA (THC)

OPIACEO (OPI)

METHYLENODIOX Y METAMFETAMINA (MDMA)



También existen paneles individuales que emplean la misma metodología y su procedimiento e interpretación es igual, estos son.

PANEL INDIVIDUAL

BARBITURICOS

BENZODIAZEPINAS

COCAINA

MARIHUANA



Estabilidad

- Estable hasta su fecha de vencimiento almacenadas de 1 a 30°C. No congelar.
- El kit es sensible a la humedad y el calor
- Realice la prueba inmediatamente después de sacar el cassette de la bolsa metálica

Muestra

ORINA:

- Orina fresca, de cualquier momento del día , recolectada en un recipiente limpio y seco
- Las muestras de orina que presenten precipitados se centrifugan y se dejan reposar
- Las muestra de orina deben conservarse a una temperatura de 2 a 8°C durante máximo 48 horas antes de analizarlas, si se van a almacenar durante un periodo prolongado las muestras pueden congelarse y conservarse a una temperatura inferior a -20°C

Procedimiento:

1-Deje que el panel de análisis, la muestra de orina o los controles alcance la temperatura ambiente,

antes del análisis.

2-Extraiga la tarjeta de prueba del envase sellado y utilícela a la mayor brevedad posible, Retire la tapa en el caso del multidroga de x10 y x6 , en el caso de multidroga individual solo extraiga la tarjeta del envase , con la flechas hacia la muestra de orina , introduzca las tiras de la tarjeta de prueba de muestra durante al menos 10 a 15 segundos para multidroga x10 y x6 Sumerja las tiras al menos hasta la zona marcada con ondas, sin sobrepasar las flechas de la tarjeta de prueba. y para el individual adicionar 3 gotas de orina (100ul) en el pocillo de muestra (S) leer en 5 minutos .

3- Vuela a colocar la tapa y situé la tarjeta de prueba sobre una superficie plana no absorbente inicie el temporizador y espere hasta que aparezca las líneas coloreadas, todo esto para multidroga x10 x6

4-Lea las tiras de adulteración entre 3 y 5 minutos y compare los colores de tira de adulteración con el grafico de colores que se incluye. Si los resultados indican una adulteración, no interprete los resultados del análisis de drogas. Vuela a analizar la muestra de orina o bien recoja otra muestra.

5-Trascurrido 5 minutos lea los resultados de la tira. No interprete los resultados transcurridos 10 minutos.

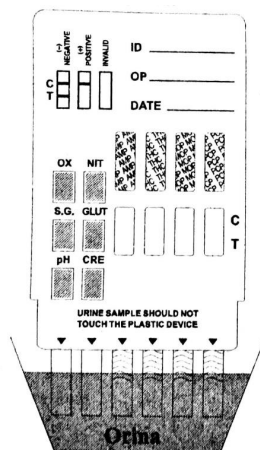
Interpretación de resultados:

NEGATIVO: Dos líneas coloreadas una en la región c y otra en la región T

POSITIVO: Una línea coloreada en la zona de la línea de control C pero ninguna en la zona de la línea de prueba T

NO VALIDO: No aparecer línea de control

DROGAS DE ABUSO X 10 Y X6



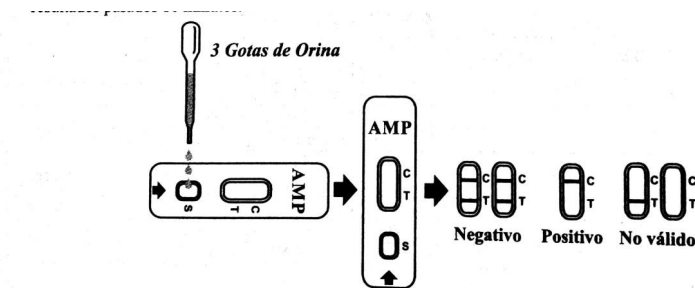
Interprete las tiras de adulteración transcurridos entre 3 y 5 minutos. Para la interpretación, consulte el gráfico de colores que se incluye.



Interprete los resultados de drogas transcurridos 5 minutos.



DROGAS DE ABUSO INDIVIDUAL



Control de calidad

Aparición de líneas coloreada en la zona C se considera el control interno del procedimiento. Los estándares del control los suministra el kit.

Falsos positivos:

- Errores técnicos o del procedimiento y otras sustancias interferentes en la muestra de orina.
- La presencia de adulterantes como lejía o alumbre

Un resultado positivo indica la presencia de una droga mas no su estado de intoxicación.

-Un resultado negativo no necesariamente indica la ausencia de drogas en la muestra puede ser que se encuentra en un nivel muy bajo del punto de corte del análisis.

ANTICUERPOS HETEROFILOS

MONOTEST

Fundamento

La mononucleosis infecciosa es una enfermedad benigna producida por el virus de Epstein-Barr (EBV) que se caracteriza en su aspecto clínico por la aparición de fiebre irregular durante una o dos semanas, dolor e hinchazón de

los ganglios cervicales e irritación faríngea; con un cuadro hematológico bastante característico debido a la gran proliferación de células linfoides atípicas.

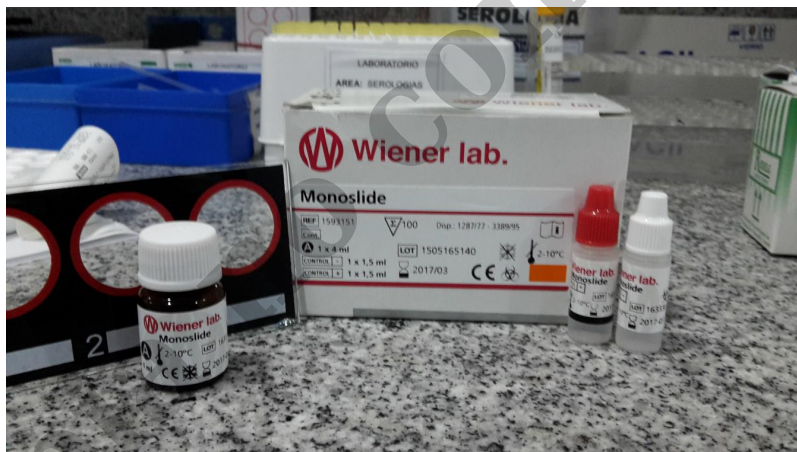
Paul y Bunnell observaron que el suero de estos pacientes generalmente contiene un alto título de anticuerpos heterófilos, capaces de aglutinar glóbulos rojos de carnero o de caballo. Estos anticuerpos no son privativos de la mononucleosis,

ya que en el suero de individuos sanos pueden existir aglutininas anti-carnero con títulos de 1/28 y hasta 1/56, observándose títulos de 1/112 o más en diversas infecciones y luego de estimulaciones antigénicas como transfusiones sanguíneas

Tales hechos indican que la evidencia de altos títulos de anticuerpos heterófilos sólo tiene valor presuntivo en el diagnóstico de esta enfermedad. David sohn introdujo la adsorción diferencial con extracto de riñón de cobayo (capaz de adsorber los anticuerpos heterófilos no-mononucleosis infecciosa o anticuerpos de Forss man), aumentando así la sensibilidad y especificidad de la prueba y permitiendo confirmar los resultados de la Paul-Bunnell, que por su rapidez y practicidad siguió empleándose como prueba de screening o selección. NO obstante, existe cierto porcentaje de pacientes (aproximadamente el 10%) con mononucleosis infecciosa que poseen bajos títulos de anticuerpos heterófilos, razón por la cual los resultados de estas pruebas únicamente son considerados significativos, desde el punto de vista diagnóstico, cuando se relacionan con los datos hematológicos y las manifestaciones clínicas del paciente

Los anticuerpos heterófilos asociados a la mononucleosis infecciosa se detectan por su capacidad de aglutinar los eritrocitos de caballo, neutralizándose simultáneamente los anticuerpos no asociados a mononucleosis (anticuerpos

Forss-man) con extracto de riñón de cobayo. La aglutinación se visualiza macroscópicamente.



Estabilidad

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

Muestra:

Suero

- a) Recolección: obtener suero de la manera usual.
- b) Aditivos: no se requieren.
- c) Sustancias interferentes conocidas: se ha descrito un inhibidor termolábil de la reacción que

produce resultados falsos negativos. Para eliminar esta interferencia es necesario inactivar el suero. Además, la hemólisis también interfiere. Inactivación: colocar el suero a 56°C durante 15 minutos, inmediatamente antes de usar.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento puede conservarse en refrigerador (2-10°C) hasta 48 horas o en congelador durante 3 meses, a partir del momento de su recolección.

Llevar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente antes de usar.

PRUEBA CUALITATIVA

Colocar una gota (50 ul) de Muestra inactivada en uno de los círculos de la placa limpia y seca. Agregar una gota (50 ul) de Reactivo A homogeneizado. Mezclar con palillo de madera hasta obtener una suspensión uniforme en toda la superficie del círculo. Inmediatamente, disparar un cronómetro y observar macroscópicamente el resultado dentro de los dos minutos. Para una correcta visualización de los resultados, debe mantenerse la placa sobre un fondo negro y ligeramente por encima de un haz luminoso horizontal (ej.: lámpara de microscopía).

PRUEBA SEMICUANTITATIVA

Los sueros positivos, según la prueba anterior, pueden titularse efectuando diluciones seriadas:

- 1) Colocar en una serie de tubos 200 ul de solución fisiológica.
- 2) Agregar al primer tubo 200 ul de la Muestra inactivada y mezclar. Transferir 200 ul de esta dilución al segundo tubo y mezclar, continuando de esta forma las diluciones hasta el último tubo. Las diluciones así obtenidas equivalen a 1:2; 1:4; 1:8; 1:16, etc.
- 3) Tomar una gota de cada dilución y ensayar según I).

Interpretación de los resultados:

TÉCNICA CUALITATIVA

Negativo: suspensión homogénea.

Positivo: aglutinación que aparece dentro de los dos minutos.

Se califica de 1 a 4 (+), siendo:

4+: aglutinación franca

3+: moderada aglutinación

2+: ligera aglutinación

1+: aglutinación débil

Un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos heterófilos asociados a la mononucleosis infecciosa.

TÉCNICA SEMICUANTITATIVA

Título: se expresa como la inversa de la máxima dilución a la que se produce aglutinación visible macroscópicamente.

Control de calidad:

Como punto de referencia de las reacciones positivas y negativas de Monoslide, es conveniente procesar simultáneamente el Control Positivo y Control Negativo provistos, que se utilizan de la misma manera que la muestra. Registre los resultados de los controles de calidad internos en el formato ID-ADLAB-MN-01-F19 Control de Calidad Prueba de Serologías 3

CrAg LFA (Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay)

EXPLICACIÓN

La Criptococosis es causada por la levadura encapsulada del *Cryptococcus neoformans*.

Los individuos con deteriorada función inmunocelular debido al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), desórdenes linfoproliferativos, terapia con esteroide y transplante de órgano tienen un alto riesgo de contraer Criptococosis. El SIDA cuenta con un 80-90% de infecciones Criptococales donde la Criptococosis aparece en el 5-10% de los pacientes con SIDA.

CrAg LFA (Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay)

El IMMY CrAg LFA (Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay) es un ensayo de tira reactiva inmunocromatográfica para la detección cualitativa y semicuantitativa del antígeno criptocócico. Este ensayo de flujo lateral está revolucionando las pruebas de antígenos criptocócicos, mediante la entrega de una sensibilidad analítica que es hasta 200 veces más sensible que otros ensayos comerciales. El CrAg LFA está capacitando a los proveedores de atención médica en todos los entornos clínicos con resultados de diagnóstico rápidos, confiables y sólidos. A diferencia de otros diagnósticos de antígenos criptocócicos en el mercado, el CrAg LFA tiene una sensibilidad excelente en los cuatro serotipos de *Cryptococcus*, incluyendo *C. gattii*.

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

Pipetas (40 µL)

Temporizador

Tubos de polipropileno

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para obtener resultados óptimos, se debería usar suero no hemolizado. Recoger muestras de CSF de forma aséptica siguiendo los procedimientos aceptados. Si no se realiza inmediatamente el procesamiento de la muestra, esta debe ser almacenada de 2-8 ° C por hasta 72 horas. Las muestras pueden almacenarse durante períodos más largos a <-20 ° C, siempre que no se descongelan y vuelven a congelar repetidamente. Las muestras en tránsito deben mantenerse a 2-8 ° C o <-20 ° C.

PROCEDIMIENTO

Procedimiento cualitativo

1. Agregue 1 gota o pipetee 40uL de diluyente de muestras LF a un tubo de ensayo
2. Agregue 40 µL de muestra al tubo y mezcle.
3. Sumerge el extremo blanco de la tira (antígeno criptocócico) en la muestra.
4. Espera 10 minutos.
5. Lea y registre los resultados



LECTURA DE LA PRUEBA

La presencia de dos líneas (prueba y control), independientemente de la intensidad, indica un resultado positivo. Una sola línea de control indica un resultado negativo. Si la línea de control no aparece, los resultados no son válidos y la prueba debe ser repetida.

ANTÍGENOS FEBRILES

Las Salmonellas se consideran patógenos entéricos obligados. Los alimentos y el agua contaminados son los mecanismos de transmisión. La enfermedad puede presentarse como gastroenteritis, septicemia con lesiones en diversos órganos o fiebre tifoidea. La Brucelosis se presenta en la mayoría de los casos con anorexia, fiebre, decaimiento y escalofríos, pudiendo aparecer luego complicaciones importantes como son las óseas y neuro-psíquicas.

Fundamento:

El suero del paciente se pone en contacto con antígenos específicos. En este caso se utilizan suspensiones de Salmonellas, Brucellas y Proteus OX-19 muertos. Si la muestra contiene los anticuerpos correspondientes se producirá una aglutinación visible macroscópicamente.

Muestra:

Suero

a) Recolección: debe obtenerse suero . No inactivar ni calentar ya que los anticuerpos son termolábiles.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: la hemólisis visible y los quilomicrones pueden dar reacciones inespecíficas.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras pueden conservarse 7 días en refrigerador (2-10o C).

Procedimiento:

• TECNICA RAPIDA EN PLACA

Colocar en una placa una gota (50 ul) de suero y agregar una gota (50 ul) de suspensión de Antígeno.

Mezclar y agitar la placa en forma circular durante 2 minutos.

Observar la presencia o ausencia de aglutinación utilizando una luz indirecta sobre fondo oscuro.

• TITULACION RAPIDA EN PLACA

1) Dividir una placa de vidrio en sectores de 4 cm² aproximadamente.

2) Empleando las micropipetas apropiadas colocar en estos sectores 80 ul, 40 ul, 20 ul, 10 ul y 5 ul de suero límpido. Repetir el procedimiento para un control negativo y uno positivo.

3) Colocar 1 gota de Antígeno previamente agitado sobre cada gota de suero.

4.) Mezclar el suero y el Antígeno utilizando una varilla abarcando un área de 2 cm de diámetro aproximadamente. Debe emplearse una varilla distinta para cada dilución de suero o la misma varilla mezclando a partir de la muestra más diluida.

5) Agitar la placa durante 2 minutos en forma circular. 6) Observar la aglutinación utilizando luz indirecta sobre fondo oscuro.

Interpretación de los resultados:

Negativo: No aparece aglutinación.

Positivo: Alutinação con el Antígeno específico

Técnica I: se indica solamente positivo o negativo.

Técnica II: el título se considerará la última dilución que da aglutinación del 50% (++)

CRIOGLOBULINAS

Las crioglobulinas son proteínas que circulan por la sangre; se trata en concreto de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM o a veces cadenas ligeras de Ig) que se agregan o precipitan a temperaturas bajas (cuando hace frío) y se re-disuelven cuando aumenta la temperatura. Pueden hallarse en sangre de personas sanas en pequeñas cantidades y suelen asociarse a una producción anómala de proteínas y a una serie de trastornos y enfermedades. Esta prueba detecta y mide la cantidad relativa de crioglobulinas en sangre.

Las crioglobulinas precipitadas pueden enlentecer el flujo normal de la sangre y pueden obstruir los vasos sanguíneos de menor calibre. La presencia de cantidades importantes de crioglobulinas en sangre, o crioglobulinemia, ocasiona erupciones, hematomas, dolor articular, debilidad y fenómeno de Raynaud. El fenómeno de Raynaud consiste en la aparición de dolor, palidez, color azulado de la piel, entumecimiento y frialdad en los dedos de manos y pies cuando hace frío. Sin embargo, estos síntomas también pueden aparecer en personas sin crioglobulinemia. Las crioglobulinas generan una lesión tisular que puede producir úlceras y en casos severos, gangrena. Las crioglobulinas pueden producir la activación del sistema inmune y con ello, puede favorecerse el depósito de inmunocomplejos en los tejidos, causando inflamación, sangrados y formación de coágulos; todo ello puede ser muy perjudicial para algunos órganos como riñón e hígado.

Se pueden hallar crioglobulinas en sangre en diversos trastornos, entre los cuales se incluyen procesos infecciosos como enfermedad de Lyme, mononucleosis infecciosa, hepatitis C, infección por VIH y/o SIDA; enfermedad renal; enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide o síndrome de Sjögren; procesos linfoproliferativos como mieloma múltiple, linfomas y algunas leucemias; trastornos asociados a inflamación de los vasos sanguíneos (vasculitis) como granulomatosis de Wegener. Las crioglobulinas no son diagnósticas ni específicas de estas enfermedades, pero constituyen uno de los signos asociados a ellas.

Existen tres tipos de crioglobulinemia:

- **Tipo I**, consiste en inmunoglobulinas monoclonales - se trata de un único tipo de proteínas producidas por una célula anómala y clonal. Este tipo de crioglobulinemia suele observarse en personas con mieloma múltiple.
- **Tipo II**, consiste en una mezcla de inmunoglobulinas policlonales y monoclonales - este tipo de crioglobulinemia suele observarse en personas con hepatitis C u otras infecciones víricas.
- **Tipo III**, consiste en inmunoglobulinas policlonales - este tipo de crioglobulinemia se observa en personas con enfermedades autoinmunes.

PROCEDIMIENTO

- Extracción de la muestra por punción de una vena del antebrazo e introducción de la sangre directamente en un tubo precalentado.
- La muestra debe mantenerse y centrifugarse a una temperatura cercana a la temperatura corporal.
- Posteriormente, se debe refrigerar el suero durante 72 horas, examinándolo diariamente (hasta 7 días) para observar si se forma un precipitado.
- En caso de que se forme un precipitado, se estima su cantidad y se recalienta la muestra para verificar si el precipitado se re-disuelve. En caso afirmativo, existen crioglobulinas.

CRIOAGLUTININAS

Principio

Para evaluar las crioglobulinas se realiza una serie de diluciones de la muestra en distintos tubos de ensayo que se dejan enfriar a baja temperatura, normalmente a 4°C. Posteriormente se evalúa el aspecto de cada una de las diluciones, buscando si se ha producido algún fenómeno de agregación de los hematíes. Los resultados se expresan como un título, es decir la mayor dilución a la que se detecta la agregación. En caso de que existan crioglobulinas, la agregación de los hematíes se ve fácilmente mientras la muestra se mantiene fría y desaparece al calentar la misma. La temperatura exacta a la que se produce este fenómeno es variable, ya que algunas crioglobulinas pueden reaccionar en todo un amplio margen de temperaturas, contrariamente a lo que sucede con otras.

Muestra

Suero tubo seco tapa amarilla con gel a temperatura ambiente.

Estabilidad de la muestra

Temperatura ambiente 15-25 °C 24 horas

Técnica

- Coloque las muestras en Baño de María a 37°C por media hora.
- Centrifugue la muestra sin anticoagulante 10 min a 3.000 rpm para obtener el suero.
- Prepare una suspensión 2-5 % de los hematíes del paciente o utilice globulos rojos O positivos
- En cada tubo rotulado agregue 100uL de solución salina 0.9 % y una gota de la suspensión de hematíes hasta el tubo # 10
- Al primer tubo añada 100 uL de suero del paciente y mézclelo bien con la pipeta y de éste tome 100 uL y añádalo al tubo #2 repita esta operación hasta el tubo #10
- Mantener la muestra a 4°C durante 24 horas y luego centrifugar 1 min 1 000 rpm y leer.

Interpretación del resultado

Su interpretación se da por la lectura del último tubo que presenta aglutinación.

Negativo diluciones inferior a 1:32

Positivo Se considera clínicamente significativa a partir de 1:32 diluciones.

Bibliografía

Manual de practicas medicas - Hospital Hermanos Ameijeras (American Association of Blood Bank, Manual tecnico.13.ED,Buenos Aires. Edigraf, 2001

CERTEST ROTAVIRUS



Principio

Es una prueba cualitativa inmunocromatografica para la deteccion de Rotavirus en muestra de

heces. La membrana de nitrocelulosa ha sido fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a Rotavirus en la línea de test (T), en la ventana de resultados y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una roteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a Rotavirus) conjugada con latex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con latex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo, (anticuerpos monoclonales anti-Rotavirus-microesferas rojas de latex) el cual ha sido secado previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-rotavirus presentes en la membrana (línea de test) capturan el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá. Esta línea se usará para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígenos de Rotavirus o los antígenos se encuentran en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con ningún complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-rotavirus presentes en la membrana (línea de test) no capturan el antígeno-complejo coloreado rojo. (no formado) y no aparecerá la línea roja.

Independientemente que la muestra sea positiva o no, la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control verde siempre aparecerá. La aparición de esta línea se utiliza 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

Muestra

La muestra son heces la cual debe ser recogida en un recipiente limpio, estas se deben conservar en frío 2-8°C durante 1-2 días, hasta el momento de utilizarla, para conservar las muestras por un tiempo prolongado como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20 °C: En este debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para ser utilizada.

Técnica:



1. Abrir tubo para dilución de muestra (tubo tapa azul) y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palillo una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra, tomando una cantidad aproximada de 125mg y posteriormente se introducirá en el tubo para dilución de muestra para muestra líquida con una micropipeta tome 125 µL en el tubo para dilución.

2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente, agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra
3. Sacar el test CerTest Rotavirus de su envase antes de utilizarlo
4. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón y añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con letras S evitando añadir partículas sólidas en el líquido
5. Leer el resultado a los 10 minutos. No leerlo mayor a este tiempo

(si se da el caso que el test no se puede leer por partículas sólidas, agitar con un palillo la muestra en la ventana (S). Si no funciona añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados)

Interpretación de los resultados

NEGATIVO Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.

INVALIDO Cuando la línea de control VERDE no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son, volumen insuficiente de muestra, forma incorrecta de proceder o deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetirse la prueba con un nuevo test.

OBSERVACIONES La intensidad de la línea de color rojo en la ventana de resultados es proporcional a la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde aparece en la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado. Registre el resultado del autocontrol en el formato ID-ADLAB-MN-01-F20 Control de Calidad Prueba de Serologías 4.

CERTEST H. PYLORI



Principio

Es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *H. pylori* en muestra de heces. La membrana de nitrocelulosa ha sido fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *H. pylori* en la línea de test (T), en la ventana de resultados y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *H. pylori*) conjugada con latex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con latex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo, (anticuerpos monoclonales anti-*Helicobacter pylori*-microesferas rojas de latex) el cual ha sido secado previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* presentes en la membrana (línea de test) capturan el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá. Esta línea se usará para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígenos de *Helicobacter pylori* o los antígenos se encuentran en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con ningún complejo coloreado rojo. Los anticuerpos *Helicobacter pylori* presentes en la membrana (línea de test) no capturan el antígeno-complejo coloreado rojo. (no formado) y no aparecerá la línea roja.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control verde siempre aparecerá. La aparición de esta línea se utiliza 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

Muestra

La muestra son heces la cual debe ser recogida en un recipiente limpio, estas se deben conservar en frío 2-8°C durante 1-2 días, hasta el momento de utilizarla. Para conservar las muestras por un tiempo

prolongado como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. En este debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para ser utilizada.



1. Abrir tubo para dilución de muestra (tubito tapa azul) y con ayuda del palillo tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas, para ello se introducirá el palillo una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra, tomando una cantidad aproximada de 125mg y posteriormente se introducirá en el tubo para dilución de muestra para muestra líquida con una micropipeta tome 125 uL en el tubo para dilución
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra
3. Sacar el test CerTest H. pylori de su envase antes de utilizarlo
4. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón y añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con letras (S) evitando añadir partículas sólidas en el líquido
5. Leer el resultado a los 10 minutos No leerlo mayor a este tiempo

(si se da el caso que el test no se puede leer por partículas sólidas, agitar con un palillo la muestra en la ventana (S) Si no funciona añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona del resultados)

Interpretación de los resultados

NEGATIVO Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.

INVALIDO Cuando la línea de control VERDE no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son, volumen insuficiente de muestra, forma incorrecta de proceder o deterioro de los reactivos Si ocurriera esto, debe revisar el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test.

OBSERVACIONES La intensidad de la línea de color rojo en la ventana de resultados es

proporcional a la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado. Registre los resultados del autocontrol en el formato ID-ADLAB-MN-01-F20 Control de Calidad Prueba de Serologías 4.

DIMERO D

Alere Triage® D-Dimer Test

Principio

La prueba Alere Triage® D-Dimer es un inmunoanálisis rápido y cuantitativo que facilita la evaluación de pacientes con posible coagulación intravascular diseminada (CID) y eventos tromboembólicos, incluidas embolia pulmonar (EP) y trombosis venosa profunda (TVP).

Muestra

Utiliza plasma o sangre completa con EDTA. Las muestras de sangre deben darse vuelta al menos siete veces antes de realizar la prueba. Debe permitirse que el plasma congelado y la sangre total refrigerada tomen temperatura ambiente y se mezclen por completo antes de llevar a cabo la prueba.

Técnica:

Escriba solo en la parte blanca de la etiqueta. Anote la ID de la muestra y la hora en que se incorporó la muestra al dispositivo.

Utilice la pipeta de transferencia de plástico, desechable, que viene con el kit de AlereTriage®. Para que la muestra ingrese en la pipeta, oprima el bulbo más grande (superior) por completo, inserte la punta de la pipeta en el espécimen y suelte el bulbo lentamente. Asegúrese de llenar la pipeta de transferencia por completo. Verifique que quede una muestra residual en el bulbo pequeño (depósito) de la pipeta y que no queden burbujas en el cilindro de la pipeta.

Administre lentamente la muestra (aproximadamente, 250 uL) en el puerto de la muestra del

dispositivo.

Apriete ligeramente el bulbo superior y más grande de la pipeta hasta que la muestra se haya administrado por completo en el bulbo superior. Quedará una pequeña cantidad de la muestra en el bulbo inferior, más pequeño.

Descarte la pipeta de transferencia usada de manera adecuada.

Permita que el espécimen se absorba por completo antes de mover el dispositivo de prueba.

Cómo llevar a cabo una prueba con Alere Triage®: Antes de realizar la prueba, asegúrese de que se cumplan los requisitos diarios de calibración. NOTA: Al llevar a cabo una prueba, asegúrese siempre de conservar los dispositivos de prueba y medición sobre una superficie plana y en sentido horizontal, fuera del alcance de la luz solar directa.

1. En la pantalla principal del menú, seleccione "Run Test" [Realizar prueba]. Presione ENTER [Aceptar].

a. Si es necesario, introduzca la ID del USUARIO con el teclado numérico.

2. Seleccione "Patient Sample" [Muestra del paciente] y presione ENTER [Aceptar].

3. Introduzca la ID del PACIENTE con el teclado numérico. Presione ENTER [Aceptar] para confirmar la ID del PACIENTE.

a. Si se comete un error al ingresar la ID del USUARIO o la ID del PACIENTE, utilice la tecla DELETE [Borrar] para corregir y volver a introducir la información.

4. Sostenga el dispositivo de prueba por los bordes e introdúzcalo con cuidado en el medidor de prueba hasta que oiga un "clic". Presione ENTER [Aceptar].



NOTA: Una vez que se agrega la muestra al dispositivo, este debe introducirse en el medidor en el transcurso de los siguientes 30 minutos. La prueba demorará aproximadamente entre 15 y 20 minutos en completarse.

Resultados: Los resultados aparecerán automáticamente en la pantalla LCD y se almacenarán en la memoria interna del medidor y se imprimirán de manera automática una vez que analiza la prueba.



NOTA: Los resultados que quedan fuera del rango preestablecido se imprimirán en blanco, sobre un fondo negro. También aparecerá el mensaje "PAT Result Abnormal" [Resultado PAT anormal]. Si el resultado está bloqueado, quiere decir que el resultado no es válido y que debe repetirse la prueba.

2. Deseche el dispositivo de prueba de manera adecuada una vez que lo retire del medidor.

Registre los resultados de control de calidad en el formato ID-ADLAB-MN-01-F19 Control de Calidad Prueba de Serologías 3 y en control de calidad Triage Meter pro.

Interpretación del Resultado

Menor a 100

EQUIPO BTS-350**FOSFATASA ACIDA Y PROSTATICA**

Enzimas presentes en casi todos los tejidos del organismo, en especial en próstata, estómago, hígado, músculo, bazo, eritrocitos y plaquetas.

Un aumento en sus niveles puede relacionarse con hipertrofia de próstata, prostatitis o carcinoma; enfermedades óseas, hepáticas y hematológicas.

Una disminución en los niveles de Fosfatasa Acida no tiene significado clínico.

REACTIVOS

R1 Tampón	Citrato Sódico pH	5.2 50 mmol/L
R2 Sustrato	A-Naftil fosfato Fast Red TR	10 mmol/L 6 mmol/L
R3 Tartrato	Tartrato Sódico Hidróxido de Sodio	2 mmol/L 1800 mmol/L
R4	Ácido acético	0.5 mmol/L

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El Kit de la casa comercial SPINREACT es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en su respectivo empaque. Debe mantenerse de 2

- 8 °C, protegido de la luz y evitar todo tipo de posible contaminación.

No usar comprimidos que se encuentren fragmentados.

No usar reactivos fuera de su fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro de los reactivos

- Presencia de partículas y turbidez
- Absorbancias del Blanco (A) a 405 nm

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termoestable a 30°C o 37°C
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz
- Equipamiento habitual de laboratorio

MUESTRAS

SUERO libre de hemolisis y partículas. No usar plasma.

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

La Fosfatasa Acida en suero es muy inestable. Estabilizar mediante la adición de 50 uL de Acido Acético por cada mL de muestra. Es estable 7 días almacenada de 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO**PREPARACIÓN REACTIVOS**

Se emplea el Kit 1001121. Disolver un comprimido de R2 Sustrato en un vial R1; usar cuando el comprimido se encuentre totalmente disuelto.

Condiciones del ensayo

*Longitud de Onda.....405 nm

*Temperatura Constante.....30-37°C

Ajustar el espectrofotometro a cero frente a agua destilada o aire.

1. Pipetear en una cubeta

	FAC TOTAL (T)	FAC No Prostática (No P)
RT (mL)	1.0	1.0
R 3 (uL)	- -	10
Muestra (uL)	100	100

2. Mezclar, incubar 5 minutos.
3. Leer la absorbancia da minuto durante 3 minutos.
4. Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto.

USO EQUIPO BTS-350

Encender equipo, aparecerá la pantalla de inicio, oprimir tecla enter que desplegará el menú inicial, oprimir icono de gota para realizar lavado

previo con la solución de lavado, colocar la solución en la manguera de aspiración. El equipo cambiara el indicador de aspiración de verde a

rojo mientras se encuentre aspirando dicha solución. Deben efectuarse dos lavados antes de realizar la medición de una prueba.

Una vez culminados los dos lavados, con las flechas de desplazamiento seleccionar la opción concentración, oprimir enter para ingresar a

esta opción. Al ingresar a esta opción, se despliega el menú de pruebas previamente programadas en el equipo.

Para FAT seleccionar 0, se ingresará a la prueba, al ingresar, el equipo informa que tardará 5 minutos termostatando, tiempo durante el cual

no se pueden procesar muestras y la luz indicadora de aspiración estará en rojo. Una vez el equipo se encuentra en la temperatura de la

prueba (37 °C) la luz indicadora pasará a verde y en la pantalla se observará la indicación.

$A/\text{min} * 750 = \text{U/L de FACT(T)}$

$750 * (\text{AE}/\text{min FAC (T)} - \text{AE}/\text{min FAC No inhibida por tartrato}) = \text{U/L de FAC prostatica.}$

NOTA: El equipo BTS - 350 cuenta con la programación en cuanto a longitud de onda, temperatura, tiempo de incubación y de lectura para

cada prueba según lo descrito por el fabricante, por lo cual solo se requiere realizar el montaje siguiendo el inserto de la prueba. Dada la

programación previa, se requiere seleccionar en el menú el tipo de prueba a realizar, pasar el blanco de agua y seguidamente ejecutar las muestras a procesar.

CONTROLES DE CALIDAD

Junto con las muestras debe analizarse sueros control valorados. Si los valores hallados de estos controles se encuentran fuera del rango de

tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

VALORES DE REFERENCIA

FAT		30°C	37°C
	Hombres	<4.3 U/L	<5.4 U/L
	Mujeres	<3.1 U/L	<4.2 U/L
FAP		<1.5 U/L	<1.7 U/L

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de Fosfatasa Ácida presente en los hematíes.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO (FAC TOTAL)

Rango de medida: Desde el límite de detección 0.13 U/L hasta el límite de linealidad 150 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

METANEFRIAS

FUNDAMENTO DEL MÉTODO Las metanefrinas contenidas en la muestra son retenidas por una resina de intercambio catiónico. Una vez eliminadas las interferencias por lavado, se eluyen las metanefrinas y se cuantifican espectrofotométricamente como vanilina después de una oxidación con periodato en medio alcalino¹.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

1. Reactivo. 1 x 225 mL.
2. Reactivo. 1 x 400 mL.
3. Microcolumnas. 2 x 20.
- B. Reactivo. 2 para 10 mL.
- C. Reactivo. 2 para 10 mL.
- S. Patrón. 2 x 5 mL.

REACTIVOS AUXILIARES – Ácido clorhídrico concentrado de grado analítico. Para pH de las muestras

CONSERVACIÓN

Conservar a 15-30°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS Reactivos (B) y (C): Añadir a los viales correspondientes 10 mL de agua destilada y agitar hasta disolución completa. Estables 5 meses a 2-8°C. EQUIPO ADICIONAL – Baño de agua hirviente – Espectrofotómetro para lecturas a 360 nm (358-362)

MUESTRAS Orina de 24 horas recogida mediante procedimientos estándar. No debe utilizarse ácido bórico como conservante.

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA Mantener a 2-8°C y utilizar antes de 24 horas. Las muestras pueden conservarse un máximo de 15 días a 2-8°C ó 1 mes a -20°C si se ajustan a un pH inferior a 3 con ácido clorhídrico concentrado (HCl). Centrifugar o filtrar antes de iniciar la determinación.

PROCEDIMIENTO

Preparación de la muestra

1. Pipetear en un tubo de ensayo: Muestra 5,0 mL
2. Ajustar el pH entre 0,7-0,9 con ácido clorhídrico concentrado.
3. Incubar en un baño de agua hirviente durante 20 minutos. Enfriar en agua corriente.

Reactivo (1) 5,0 mL

Separación Cromatográfica

4. Destapar la Microcolumna (3), romper la lengüeta inferior y bajar el filtro hasta el nivel de la resina, evitando comprimirla. Dejar pasar todo el sobrenadante desechando el eluido.

5. Verter el contenido del tubo (muestra tratada) en la microcolumna y desechar el eluido.

6. Lavar el tubo con 3 mL de agua destilada y verterlo en la microcolumna. Desechar el eluido.

7. Añadir a la microcolumna:

Agua destilada 10,0 mL Desechar el eluido Reactivo (2)

7,5 mL Recoger el eluido 8. Agitar bien el eluido.

Colorimetría

9. Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco Reactivo	Blanco patrón	Patrón	Blanco muestra	Muestra
Eluido				2 mL	2 mL
Patrón (S)		0.1 mL	0.1 mL		
Reactivo (2)	2 mL	1.9 mL	1.9 mL		
Reactivo (C)		0.05 mL		0.05 mL	

10. Agitar bien y añadir:

Reactivo (B) 0,05 mL 0,05 mL 0,05 mL 0,05 mL 0,05 mL EN TODOS LOS TUBOS

11. Agitar bien y dejar reaccionar durante 2 minutos a temperatura ambiente (15-30°C). A continuación añadir:

Reactivo (C) 0,05 mL EN TUBO BLANCO REACTIVO, PATRON Y MUESTRAS

12. Agitar bien y leer la absorbancia (A) de la muestra, patrón y sus blancos frente al blanco de reactivos a 360 nm. La absorbancia es estable durante 60 minutos.

USO EQUIPO BTS-350

Encender equipo, aparecerá la pantalla de inicio, oprimir tecla enter que desplegará el menú inicial, oprimir icono de gota para realizar lavado

previo con la solución de lavado, colocar la solución en la manguera de aspiración. El equipo cambiará el indicador de aspiración de verde a

rojo mientras se encuentre aspirando dicha solución. Deben efectuarse dos lavados antes de realizar la medición de una prueba.

Una vez culminados los dos lavados, con las flechas de desplazamiento seleccionar la opción

absorbancia, oprimir enter para ingresar a esta

opcion. Al ingresar a esta opcion se le da en la tecla en forma de triangulo que se encuentra debajo para poner línea de base , el equipo

informa que tardará 5 minutos termostatando, tiempo durante el cual no se pueden procesar muestras y la luz indicadora de aspiración estará

en rojo. Una vez el equipo se encuentra en la temperatura adecuada la luz indicadora pasara a verde y en la pantalla se observará la indicación

se pondra agua destilada, despues de que la medicion da cero, seguir la medicion de cada tubo uno por uno. Despues de obtener la

absorbancia de las muestra se realizaran los calculos teniendo en cuenta la formula dada en el inserto.

Nota Inmediatamente hacer 3 lavados con solucion de lavado y minimo 10 veces con agua destilada para evitar el daño por los reactivos utilizados.

CÁLCULOS

La concentración de metanefrinas en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\frac{A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco Muestra}}}{A_{\text{Patrón}} - A_{\text{Blanco Patrón}}} \times \frac{V_E}{V_M} \times \frac{V_{PC}}{V_{EC}} \times C_p \times \frac{1}{\text{Rec}} = C_{\text{Muestra}}$$

El volumen de muestra (VM) es 5 mL, COCvolumen de Patrón en la colorimetría (VPC) es 0,1 mL, la concentración del Patrón (Cp) es 100 mg/L ó 550 µmol/L y la media de la recuperación (Rec) es 0,98. Se deducen las siguientes fórmulas para calcular la concentración:

$\frac{A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco Muestra}}}{A_{\text{Patrón}} - A_{\text{Blanco Patrón}}}$	<p>x 7,65 = mg/L metanefrinas</p> <p>x 42,1 = µmol/L metanefrinas</p>
---	---

La cantidad de metanefrinas en la orina de 24 horas se calcula según las siguientes fórmulas generales:

$\frac{\text{mg/L metanefrinas}}{\mu\text{mol/L metanefrinas}}$	$\times V_{\text{Orina/24 horas}} (\text{L}) =$	$\frac{\text{mg metanefrinas/24 horas}}{\mu\text{mol metanefrinas/24 horas}}$
---	---	---

VALORES DE REFERENCIA

Orina: hasta 1 mg/24 h = hasta 5,5 µmol/24 h

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

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de la Orina Control (cod. 18036 y 18037) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida. Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno; así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La metanefrina y la normetanefrina, conocidas como metanefrinas, son metabolitos de la vía de degradación de las catecolaminas que se excretan en orina. Los valores elevados de metanefrinas se asocian a la existencia de feocromocitoma, paragangliomas y neuroblastomas, tumores del tejido cromafín secretores de catecolaminas^{4,5,6}. El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

ACIDO VANILMANDELICO

FUNDAMENTO DEL MÉTODO El ácido vanilmandélico (VMA) presente en la muestra es retenido por una resina de intercambio aniónico. Una vez eliminadas las interferencias por lavado, se eluye y se cuantifica por espectrofotometría como vanilina después de una oxidación con periodato en medio básico^{1,2,3}.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

1. Reactivo. 1 x 25 mL.
2. Reactivo. 1 x 120 mL.
3. Reactivo. 1 x 170 mL.
4. Microcolumnas. 1 x 20.
 - A. Reactivo. 1 x 30 mL.
 - B. Reactivo. 1 para 10 mL.
 - C. Reactivo. 1 para 10 mL.
 - S. Patrón. 1 para 5 mL.

REACTIVOS AUXILIARES – Ácido clorhídrico concentrado de grado analítico.

CONSERVACIÓN

Conservar a 15-30°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS Reactivos (B) y (C): Añadir a los viales correspondientes 10 mL de agua destilada y agitar hasta disolución completa. Estables 5 meses a 2-8°C. Patrón (S): Disolver en 5 mL de Reactivo 3 y añadir una gota de ácido clorhídrico concentrado. Estable 5 meses a 2-8°C.

EQUIPO ADICIONAL – Espectrofotómetro para lecturas a 360 nm (358-362) – Baño termostatzable

MUESTRAS Orina de 24 horas recogida mediante procedimientos estándar. Mantener a 2-8°C y utilizar antes de 24 horas.

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA Las muestras pueden conservarse más tiempo si se ajusta el pH entre 1-2 con ácido clorhídrico concentrado (HCl) y se mantienen un máximo de 5 días a 2-8°C ó 1 mes a - 20°C. Centrifugar o filtrar antes de iniciar la determinación.

PROCEDIMIENTO

Preparación de la muestra:

1. Pipetear en un tubo de ensayo

Muestra 1,0 mL Reactivo (1) 1,0 mL

Separación cromatográfica:

2. Destapar la Microcolumna (4), romper la lengüeta inferior y bajar el filtro hasta el nivel de la resina, evitando comprimirla. Dejar pasar todo el sobrenadante desechando el eluido.

3. Verter el contenido del tubo (muestra tratada) en la microcolumna y desechar el eluido.

4. Lavar el tubo con 2-3 mL de agua destilada y verterlo en la microcolumna. Desechar el eluido.

5. Añadir a la microcolumna:

Reactivo (2) 5,0 mL Desechar el eluido

6. Colocar la microcolumna sobre un tubo de ensayo y pipetear:

Reactivo (3) 6,0 mL Recoger el eluido

7. Agitar bien el eluido para homogeneizarlo .

Colorimetría

8. Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco Reactivo	Patrón	Blanco Muestra	Muestra
Eluido	—	—	1,0 mL	1,0 mL
Reactivo (3)	1,0 mL	0,9 mL	—	—
Patrón (S)	—	0,1 mL	—	—
Reactivo (A)	0,4 mL	0,4 mL	0,4 mL	0,4 mL
Reactivo (B)	0,1 mL	0,1 mL	—	0,1 mL

9. Agitar bien e incubar a 37°C durante 30 minutos. Añadir a continuación a cada tubo:

Reactivo (C)	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL
Reactivo (B)	—	—	0,1 mL	—

10. Leer la absorbancia (A) del blanco de muestra, muestra y patrón frente al blanco de reactivos a 360 nm. La absorbancia es estable durante 2 horas.

USO EQUIPO BTS-350

Encender equipo, aparecerá la pantalla de inicio, oprimir tecla enter que desplegará el menú inicial, oprimir icono de gota para realizar lavado

previo con la solución de lavado, colocar la solución en la manguera de aspiración. El equipo cambiara el indicador de aspiración de verde a

rojo mientras se encuentre aspirando dicha solución. Deben efectuarse dos lavados antes de realizar la medición de una prueba.

Una vez culminados los dos lavados, con las flechas de desplazamiento seleccionar la opción absorbancia, oprimir enter para ingresar a esta

opción. Al ingresar a esta opción se le da en la tecla en forma de triangulo que se encuentra debajo para poner línea de base, el equipo

informa que tardará 5 minutos termostatando, tiempo durante el cual no se pueden procesar muestras y la luz indicadora de aspiración estará

en rojo. Una vez el equipo se encuentra en la temperatura adecuada la luz indicadora pasara a verde y en la pantalla se observara la indicación

se pondra agua destilada, despues de que la medicion da cero, seguir la medicion de cada tubo uno por uno. Despues de obtener la

absorbancia de las muestra se realizaran los calculos teniendo cuenta la formula dada en el inserto.

Nota Inmediatamente hacer 3 lavados con solución de lavado y minimo 10 veces con agua destilada para evitar el daño por los reactivos

utilizados.

CÁLCULOS

La concentración de VMA en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\frac{A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}} \times \frac{V_E}{V_M} \times \frac{V_{PC}}{V_{EC}} \times C_P \times \frac{1}{\text{Rec}} = C_{\text{Muestra}}$$

El volumen de muestra (VM) es 1 mL, el volumen de eluido (VE) es 6 mL, el volumen de eluido en la colorimetría (VEC) es 1 mL, el volumen de Patrón en la colorimetría (VPC) es 0,1 mL, la concentración del Patrón (Cp) viene indicada en la etiqueta del vial y la media de la recuperación (Rec) es 0,888. Se deducen las siguientes fórmulas para calcular la concentración:

$\frac{A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}} \times C_P$	$\times 0,676 = C_{\text{Muestra}}$
---	-------------------------------------

La cantidad de VMA en la orina de 24 horas se calcula según las siguientes fórmulas generales:

mg/L VMA μmol/L VMA	$\times V_{\text{Orina/24 horas (L)}} =$	mg VMA/24 horas μmol VMA/24 horas
------------------------	--	--------------------------------------

VALORES DE REFERENCIA

Orina: < 13,6 mg/24-h = < 68,6 μmol/24-h

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

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de la Orina Control (cod. 18036 y 18037) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida. Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

El Ácido Vanilmandélico es el producto final principal del metabolismo de las catecolaminas que se excreta en orina. Su medida refleja la producción total de adrenalina y noradrenalina. Los valores elevados de excreción diaria de ácido vanilmandélico están asociados con los tumores de neurocromafina secretores de catecolaminas como feocromocitomas, neuroblastomas o paragangliomas^{4,6}. El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTIFICACION DE GESTANTES AL LABORATORIO DE SALUD PUBLICA

En Bogotá, diariamente el área de serologías, reportará al Laboratorio de Salud Pública los resultados positivos de Pruebas de embarazo de pacientes de Bogotá, recibidas en sede Lago, Norte, Occidente y Palermo. Esta notificación se realizará siguiendo la siguiente ruta:

HEMOCLASIFICACIÓN

- Hemoclasificación en placa

Reactivos:

- Suero comercial Anti A.
- Suero comercial Anti B.
- Suero comercial Anti D.

Materiales:

- Lámina hemoclasificadora.
- Pipetas de Pasteur.
- Palillos o mezcladores.
- Lámpara.(opcional)

Muestra:

Sangre anti coagulada con EDTA.

Procedimiento:

1. Dispensamos una gota de anti A, una gota de anti B y una gota de anti D en la lámina de vidrio que viene ya marcada.
2. Sobre cada una de estas gotas dispensamos sangre del paciente.
3. Mezclamos y esperamos aglutinación aproximadamente durante mínimo un (1) minuto.
4. Observamos aglutinación (positivo) y no aglutinación (negativo).

AGLUTINACIÓN

AGLUTINACIÓN A
AGLUTINACIÓN B
AGLUTINACIÓN AB
AGLUTINACIÓN D
NO AGLUTINACIÓN D

INTERPRETACIÓN

GS A
GS B
GS AB
RH +
RH -

- Hemoclasificación en columna-TEST Cassette Anti-A/Anti-B/Anti-D (Cassette de determinación de grupos ABO-Rh)

Muestras requeridas:

1. Tubo con EDTA centrifugado ó paquete globular.

Nota: Las muestras se estudiarán en cuanto sea posible después de su obtención. Si se produce un retraso en la realización de la prueba, se almacenarán entre 2 y 8°C, por un período no superior a un (5) día.

Condiciones adicionales de almacenamiento de los cassettes:

- Almacenar los cassettes en posición vertical.
- No almacenar los cassettes cerca de una fuente de calor (como un bloque de calor, un radiador, grandes equipos, neveras, congeladores, etc.), o en cualquier zona que reciba la luz solar directa

Metodo automatizado

Equipos y materiales Metodo Manual:

- Equipo ORTHO VISION Analyzer

Procedimiento metodo automatizado

1. Revisar que el equipo tenga suficiente solución salina, agua destilada, **Cassette Anti-A/Anti-B/Anti-D.**
2. Click en registrar/cargar.
3. Colocar las muestras en el equipo y esperar que el equipo escanee..
4. seleccionar en el tipo de perfil (HEMOCLASIFICACIÓN).
5. seleccionar en el tipo de muestra (CellBlood).
6. Click en el icono enviar lista de trabajo.

Lectura e interpretación de la clasificación sanguínea ABO-Rh:

La interpretación de los resultados obtenidos para cada paciente se debe realizar de acuerdo al siguiente cuadro:

La presencia de reacciones negativas con el antisuero Anti D de la prueba, requiere la realización de la prueba de antígeno débil del D (Variante Du).

VARIANTE Du

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El principio básico de la prueba es la reacción de aglutinación, evaluada macroscópicamente. El componente activo está constituido por anticuerpos (inmunoglobulinas) monoclonales obtenidos de sobrenadantes de cultivos de hibridinomas.

Método Manual

Para uso en tubos únicamente.

1. Realice una suspensión al 3-4% de los hematíes a estudiar en solución salina fisiológica.
2. En una lamina agregue una gota de hematíes del paciente y una gota del reactivo.
3. Mezclar por un minuto.
4. Efectuar lectura macroscópicamente.

CALCULO E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Variante Du: Positivo (Aglutinación).

Variante Du: Negativo (No se observa aglutinación).

Esta prueba es de cortesía cuando se presenta duda si realmente es rh negativo, población mixta RH o cuando el anti D no es claro.

COOMBS DIRECTO

Esta prueba esta indicada en sospecha de anemia hemolítica autoinmune, hemolisis inducida por drogas, enfermedad hemolítica del recién nacido y reacciones aloinmunes por transfusiones recientes.

Muestra: Sangre total con EDTA

Procedimiento:

1. Revisar que el equipo tenga suficiente solución salina, agua destilada, cassetts AHG Polyespecific (color negro) y pocillos disponibles en la microplaca de dilución.
2. Click en registrar/cargar.
3. Colocar las muestras en el equipo y esperar que el equipo escanee..
4. seleccionar en el tipo de perfil (coombs directo).

5. seleccionar en el tipo de muestra (CellBlood).
6. Click en el icono enviar lista de trabajo.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y CRITERIOS DE VALIDACIÓN

Pacientes con resultado positivo de 0.5 dudosos se debe solicitar nueva.

Cuando el resultado sea positivo se debe reportar en notas de resultado la reacción según las abreviaturas del equipo ejemplo.

- Positivo: 4 +, se sugiere correlacionar con historia clínica (CH).

Definición	Abreviaturas del software
Reaccion “ (+)”	0.5
Reaccion “ 1+”	1
Reaccion “ 2+”	2
Reaccion “ 3+”	3
Reaccion “ 4+”	4

COOMBS INDIRECTO

Esta prueba detecta anticuerpos circulantes contra los glóbulos rojos. Su propósito es determinar si el paciente tiene anticuerpos en el suero capaces de adherirse a los glóbulos rojos (aparte de los sistema principal ABO o los de tipo RH).

Muestra: Suero.

Procedimiento:

1. Revisar que el equipo tenga suficiente solución salina, agua destilada, cassetts AHG Polyespecific (color negro) y que las células I y II estén, el código de barras hacia el frente.
2. Click en registrar/cargar.

3. Colocar las muestras en el equipo y esperar que el equipo escanee..
4. seleccionar en el tipo de perfil (coombs indirecto).
5. seleccionar en el tipo de muestra (plasma o serum).
6. Click en el icono enviar lista de trabajo.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y CRITERIOS DE VALIDACIÓN

Pacientes con resultado positivo de 0.5 dudosos se debe solicitar nueva.

Definición	Abreviaturas del software
Reaccion “ (+)”	0.5
Reaccion “ 1+”	1
Reaccion “ 2+”	2
Reaccion “ 3+”	3
Reaccion “ 4+”	4

- Pacientes con resultado positivo que tienen historico se le debe realizar diluciones a la muestra.
- Los resultados de las diluciones se debe colocar en notas de resultados ejemplo:
- Positivo: 4 Dils, se sugiere correlacionar con historia clinica(CH).
- Resultado confirmado en muestras tomadas en dia diferente(RCM).Se sugiere correlacionar con historia clinica(CH).

PRUEBA RAPIDA HIV 1/2 3.0

Fundamento

El kit de SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 es una prueba inmunocromatográfica rápida cualitativa para la detección de anticuerpos (IgG,IgM,IgA) específicos de HIV-1 incluyendo el subtipo-O y HIV-2 simultaneamente en suero humano, plasma o sangre total. El antígeno HIV-1/2 recombinante (gp41, p24 y gp36), con el conjugado coloidal dorado y la muestra de suero se desplazan a lo largo de la membrana cromatográfica hasta llegar a la región de prueba (T) y forman una línea visible del complejo antígeno- anticuerpo-antígeno complejo coloidal dorado con un alto grado de sensibilidad y especificidad. Las líneas de prueba y la línea control en la ventana de resultados han sido claramente etiquetadas; "1" para la línea de prueba (HIV-1), "2" para la línea de prueba (HIV-2) y "C" para la "línea control" tanto las líneas de prueba como las del control es utilizada para el monitoreo del procedimiento. Esta línea de control debiera aparecer si se realiza el procedimiento de prueba

adecuadamente y si los reactivos de prueba en la línea de control están funcionando correctamente.

Almacenamiento

1-30 °C (no congelar los componentes del Kit).

Procedimiento de la prueba

1. Retirar el dispositivo de la bolsa que contiene el papel aluminio y colocarla sobre una superficie plana y seca.
2. Adicionar 10 uL de la muestra de suero extraída dentro del pozo de la muestra. (con una micropipeta)
3. Agregar 4 gotas (aproximadamente 120 uL) de diluyente de ensayo verticalmente dentro del pozo de muestra (S).
4. En la medida en que empieza la prueba a funcionar, se observa que el color púrpura se desplaza a través de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de la prueba.
5. El tiempo de obtención de los resultados oscila entre 10 y 20 minutos. Tras añadir el diluyente del ensayo, lea el resultado después de 10 minutos. (no esperar más de 20 minutos).

Interpretación de la prueba

Resultado negativo: La presencia de una banda de control (C) dentro de la ventana de resultados indicativos de un resultado negativo.

Resultado positivo: 1. La presencia de dos líneas tanto línea control (C) y la línea de prueba 1(1) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo para HIV-1.

2. La presencia de dos líneas tanto línea control (C) y la línea de prueba 2(2) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo para HIV-2.

3. La presencia de tres líneas tanto línea control (C) y la línea de prueba 1(1) y la línea de prueba 2(2) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo para HIV-1 y/o HIV-2.

Resultado no válido: Si no hay presencia de la línea de control (C) o / y el color rosa/púrpura en la ventana de resultados indica un resultado no válido. Es posible que no se hayan puesto en práctica las instrucciones correctamente, o que la prueba se hubiese deteriorado. Se recomienda aplicar nuevamente analizar la muestra.

Limitaciones de la prueba

- Si las muestras no son analizadas inmediatamente, deben ser refrigeradas de 2-8 °C. Para periodos de almacenamiento mayores a 2 semanas, se recomienda congelar. Las muestras deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C) antes de uso.
- Las muestras que contienen precipitados pueden arrojar resultados de prueba inconsistente.
- La prueba por sí sola no se puede utilizar para diagnósticos HIV.
- Un resultado negativo en un momento dado no descarta la posibilidad de infección por HIV1/HIV2. Las muestras pueden contener niveles bajos para HIV-1 Y HIV-2.

Control de Calidad Interna

La línea de control se emplea para controlar el procedimiento. Una línea de control visible confirma que se ha aplicado correctamente el diluyente y que los principios activos de la tira funcionan, pero no garantiza que la muestra se haya aplicado correctamente ni que el control de dicha muestra sea positivo.

- Sensibilidad 100%.
- Especificidad 99.8 %.

PRUEBA ANTÍ-HVC DE UN SOLO PASO

Fundamento

La prueba es un ensayo inmunocromatográfico in vitro rápido diseñada para la detección cualitativa de anticuerpos específicos para el VHC en suero, contiene una tira de membrana, que se ha recubierto previamente con un antígeno de captura del VHC recombinante (núcleo, NS3, NS4 Y NS5) en la región de la línea de la prueba. El conjugado de oro coloidal de la proteína A y la muestra de suero se mueven cromatográficamente a lo largo de la membrana hasta la región de prueba (T) y forman una línea visible a medida que se crea el complejo de partículas de oro conjugado con la proteína A- antígeno- anticuerpo con alto grado de sensibilidad y especificidad. Este dispositivo cuenta con los indicadores T y C para señalar las líneas de prueba ("test line") y de control ("control line") en la superficie del cuerpo del mismo. Tanto la línea de la prueba como la línea de control de la ventana de resultados no son visibles antes de aplicar la muestra.

Almacenamiento

1-30 °C (no congelar los componentes del Kit).

Procedimiento de la prueba

1. Deje que todos los componentes del Kit y las muestras alcancen la temperatura ambiente, entre 15- 30°C, antes de realizar la prueba.
2. Saque el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio y colóquelo en una superficie plana y seca. Etiquete el dispositivo con de prueba con identificador del paciente.
3. Usando una micropipeta dispense 10 uL de la muestra de suero en el pocillo para muestras (S).
4. Dispense 4 gotas del diluyente del ensayo en el pocillo para muestras (S).
5. A medida que la prueba comience actuar, verá el color púrpura moviéndose a través de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de la prueba.
6. Interprete los resultados de la prueba transcurrida de 5 a 20 minutos. (no leer después de los 20 minutos).

Interpretación de la prueba

Resultado negativo: si solo aparece la línea de control (C) dentro de la ventana de resultados, indica resultado negativo.

Resultado positivo: la presencia de la línea de prueba (T) y de línea de control (C) dentro de la

ventana de resultados, independientemente de que línea aparezca primero, indica un resultado positivo.

Resultado no válido: si la línea de control (C) no es visible en la ventana, el resultado se considera no válido. Es posible que no haya seguido las instrucciones correctamente o que la prueba se haya deteriorado por haber caducado.

Limitaciones de la prueba

1. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por VHC. Séran necesarias otras pruebas clínicamente disponible si se obtiene resultados cuestionables.
2. Debido a la naturaleza cualitativa de la prueba de diagnostico in vitro (DIV), la línea de prueba puede ser debil o no aparecer (falso negativo) en las muestras que contengan altas densidades debido al efecto prozona. Para obtener un resultado definitivo, se deben seguir todos los descubrimientos clínicos y de laboratorio.

Control interno de calidad.

La linea de control se utiliza para controles de procedimiento y solo muestra que el diluyente se ha aplicado correctamente y que los principios activos de los componentes principales de la tira funcionan, pero no es una garantía de que la muestra se haya aplicado adecuadamente y no representa un control positivo de la muestra.

- Sensibilidad: 99.3 %.

- Especificidad:98.1

Prueba rapida HBSAG

Fundamento

Es un analisis inmuno-cromatográfico in vitro de un solo paso diseñado para la determinación cualitativa de HBaAg en suero humano. El kit esta diseñado para ser usado por profesionales como prueba de Screening inicial y las muestras reactivas deben ser confirmadas mediante pruebas suplementarias. Este Kit es para uso diagnóstico in vitro únicamente. Este producto es adecuada para mujeres embarazada, pero aún no se ha probado con neonatos.

Este casete de prueba contiene una tira de membrana que está pre-impregnada con anticuerpos de ratones monoclonales anti-HBs en la región de la banda de prueba. El conjugado de oro coloidal de ratones monoclonales anti-HBs y la muestra se mueve cromatográficamente lo largo de la membrana a la región de prueba (T) y forma una línea visible como una forma compleja de partículas de oro de anticuerpo-antígenos-anticuerpo.

Almacenamiento

1-30 °C (no congelar los componentes del Kit).

Procedimiento de la prueba

1. Espere hasta todos los componentes del equipo estén a temperatura ambiente (15-35°C) antes de realizar la prueba.
2. Remueva el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio y colóquelo sobre una superficie plana y seca.
3. Añada 100 uL de suero en el pozo de muestra.
4. Tan pronto empiece la prueba, usted verá un color púrpura moviéndose a lo largo de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de prueba.
5. Interprete los resultados de la prueba en 20 minutos.

Interpretación de la prueba

Resultado negativo: La presencia de una sola banda ("C") dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.

Resultado positivo: La presencia de dos bandas de color ("T" y "C") dentro de la ventana de resultados, sin importar cuál aparece primero, indica un resultado positivo.

Limitación de la prueba

Un resultado negativo no excluye la posibilidad de una infección con HBV. Se requieren otros exámenes clínicos disponibles si se obtienen resultados cuestionables. Como ocurre con todas las pruebas de diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no se debería basar solamente en el resultado de una prueba individual, pero debería ser hecho por un médico, después que hayan evaluado los resultados clínicos y de laboratorio.

Control de calidad

La línea de control se usa como control del proceso. La línea de control garantiza que la muestra se haya aplicado correctamente o que la muestra fue almacenada correctamente.

TSH NEONATAL

Fundamento

Determinación de hipotiroidismo dentro de los primeros días de nacido ha sido reconocido como la prueba diagnóstica más importante en neonatos por la Asociación Americana de Tiroides, los reactivos esenciales requeridos para un ensayo secuencial inmunoenzimométrico incluir anticuerpos con una alta afinidad y especificidad (conjugado enzimático e inmovilizado).

Después de la mezcla del búfer de elución con anticuerpos biotinilados, con la mancha de sangre seca que contiene el antígeno nativo, los resultados de la reacción entre el antígeno eluido y el anticuerpo forman un complejo de antígeno-anticuerpo. Después de un período de incubación adecuado, la unión antígeno- anticuerpo unido a la tracción unida es separada por decantación o aspiración. Otros anticuerpos (dirigidos a diferentes epitopes) etiquetados con una enzima es adicionado. Otra interacción ocurre para formar un complejo anticuerpo biotinilado-antígeno-anticuerpo marcado enzimáticamente en la superficie de los pozos.

La enzima en exceso es retirada por medio de un paso de lavado. Un sustrato adecuado es adicionado para producir un color medible con el uso de un espectrofotómetro. La actividad de la enzima en el pozo es directamente proporcional a la concentración de TSH en la mancha de sangre seca. Utilizando diferentes gotas secas con concentraciones de antígenos conocidas, una curva de dosis respuesta se genera y desde esta se pueden obtener la concentración de antígenos de muestras desconocidas.

Almacenamiento

1-30 °C (no congelar los componentes del Kit).

Procedimiento de la prueba

1. Marcar los pozos de la microplaca para cada calibrador, muestras de control y de paciente para que sean ensayadas en duplicado.
2. Perfore un punto de sangre de cada calibrador, control y muestras dentro de los pozos asignados.
3. Agregar 0.100 ml (100uL) de reactivo NTSH Biotina dentro de los pozos.
4. Agitar la microplaca suavemente durante 20-30 segundos para mezclar.
5. Tapar con una cubierta de microplaca y dejar rotando durante 90 minutos a temperatura ambiente usando agitador para microplacas y programado en velocidad 800 +/- 100 rpm.
6. Descartar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración. Si se realiza decantación, golpee y saque la placa con papel absorbente.
7. Agregar 350 uL de tampon de lavado.
8. Agregar 100 uL del Reactivo enzimático NTSH a cada pozo.
9. Cubrir la microplaca y rotar por 45 minutos a temperatura ambiente usando agitador para microplacas y programado en velocidad 800 +/- 100 rpm.
10. Agregar 350 uL de tampon de lavado.
11. Agregar 0.100 ml (100 uL) de solución de sustrato a cada pozo.
12. Cubrir la microplaca y rotar por 45 minutos a temperatura ambiente utilizando agitador para microplacas programado en velocidad 800 +/- 100 rpm.
13. Adicionar 0.050 ml (50 uL) de solución de parada dentro de cada pozo y mezclar fuertemente durante 15-20 segundos.
14. Con el objetivo de ajustar los resultados al punto de corte establecido por el Instituto Nacional de Salud en muestras de sangre de cordón, dividir cada concentración de calibrador o control entre un factor de 1.8. Introducir estos nuevos valores en el lector de microplacas. Estos valores deberán utilizarse para trazar la curva.
15. Leer la absorbancia en cada pozo a 450 nm(usando una longitud de onda de referencia de 620-630 nm para minimizar las imperfecciones de los pozos) en un lector de microplacas. Los resultados deben ser leídos entre los quince (15) minutos después de haber adicionado la solución de parada.

Control de calidad

Cada laboratorio ensayará los controles a niveles de inferior, medio y mayor nivel para el monitoreo del desempeño del análisis. Estos controles serán tratados como desconocidos y los valores determinados en cada procedimiento de prueba realizado. Las tarjetas de control de calidad serán mantenidas en seguir el desempeño de los reactivos suministrados. Los métodos estadísticos pertinentes serán empleados para acertar en las tendencias. Cada laboratorio debe configurar sus límites de desempeño aceptables del ensayo. La desviación significativa del desempeño establecido puede indicar cambio no notificado en las condiciones experimentales o degradación de los reactivos del Kit. Los reactivos frescos serán usados para determinar la razón para las variaciones.

NOTA: Una vez procesada las muestras se realiza lectura y se registra en el formato ID-ADLAB-GU-21-F01 Hoja de Trabajo Serologías, la identificación de la muestra (labcore) y el resultado obtenido, garantizando trazabilidad de los reportes, posteriormente se transcriben los reportes al sistema labcore para realizar el proceso de validación y liberación del reporte.

TEST DE ALIENTO PARA HELICOBACTER PYLORI TEST UREA C14 (Helicobacter)

Método: Espectrofotometría.

Sensibilidad: 98%.

Especificidad: 100%

Principio de Funcionamiento

Helicobacter Pylori produce ureasa, una enzima que cataliza la hidrólisis de urea 14 C en 14CO_2 y NH_3 . 14CO_2 se expulsa en el aire exhalado mientras que NH_3 y el exceso de urea 14 C se expulsa en la orina. En buen estado de salud (ausencia de Helicobacter pylori), la urea 14 C no se hidroliza y no habrá presencia de 14CO_2 en el aire exhalado. por tanto, el 14CO_2 solo está presente en el aire exhalado dentro del BreathCard si hay infección de Helicobacter pylori.

Es una prueba cualitativa por lo tanto el valor de recuento medido no se utilizará para evaluar el grado de infección o la carga bacteriológica, se basa en la medición de radiación desde BreathCard, cuando el analizador esta desactivado, la radiación de fondo se mide continuamente a través de los contadores Geiger-Muller superior e inferior durante 40 ciclos de 50 segundos cada uno. Para garantizar la calibración el analizador debe conservar la tarjeta de protección insertada entre las mediciones. Un sensor óptico detecta si el BreathCard es insertado correctamente. Al pulsar la tecla de inicio, se inicia el ciclo de medición de 250 segundos. Los dos contadores Geiger-Muller detectan la radiación. En caso de que el valor total esté entre 50 y 100 recuentos, el analizador vuelve a medir automáticamente Heliprobe BreathCard para confirmar el resultado.

KIT DE LA PRUEBA

- Helicap
- Heliprobe BreathCard.
- Heliprobe Analyzer (Tarjeta de protección y Adaptador de Alimentación)

Configuración

1. Pulse la tecla iniciar/Detener al mismo tiempo que conecte el adaptador de alimentación.
2. Aparecerá el Set- up menú en la pantalla. Pulse la tecla confirmar **OK**.

3. Aparecerá Choose menu, clar start? en la pantalla, pulse la tecla confirmar **OK** para continuar para el flujo de trabajo de configuración.
4. Cuando aparezca Set- up complete, exit? en la pantalla, inserte la tarjeta de protección y pulse la tecla confirmar **OK**.
6. Espere al menos 17 minutos para la medición de la calibración.
7. La luz del diodo estará en rojo durante esta medición.
8. El analizador estará listo cuando la medición de fondo haya finalizado y la luz cambie a verde.

Ajuste fecha y hora:

1. Continúe los pasos del 1 al 3 del anterior proceso.
2. Cuando aparezca el Choose menu, clar start? en la pantalla pulse la letra Menú hasta que aparezca Choose menu: set clock?
3. Pulse la letra confirmar OK.
4. Establezca la fecha y hora actuales pulsando la tecla imprimir (para bajar) o la tecla menú (para subir) los dígitos de la pantalla. Utiliza la tecla confirmar OK para continuar con el siguiente dígito.
5. Continúe por el menú pulsando la letra Menú hasta que aparezca Set- up complete, exit?.
6. Pulse la letra confirmar OK.
7. Inserte la tarjeta de protección y espere al menos 35 minutos de la medición de la calibración.

PROCEDIMIENTO

1. Para la toma de muestra remitirse al instructivo ID-ADLAB-IN-04 Instructivo de Toma de Muestra numeral 10.5 Test de aliento.
2. En el área se debe recibir el sobre de manera vertical debidamente identificado con sticker o de manera manual con datos demográficos del paciente (nombre y documento) entidad de donde se remite, fecha y hora de terminación de la toma de la muestra.
3. Dentro de la bolsa debe estar el BreathCard con la boquilla hacia la superficie de la bolsa (apertura de la bolsa).
4. Retire del sobre el BreathCard con las manos en forma de pinza, se debe sacar el aire presionando sin tocar el filtro o el indicador.
5. Retire la tarjeta de protección.
6. Insertar el BreathCard con la boquilla hacia afuera y el filtro hacia arriba, la pantalla muestra "ready to measure, standard program".
7. Pulse la tecla Iniciar/Detener para iniciar la medición y el análisis, la pantalla "measuring" e indica el tiempo que queda (segundos), en minutos son 4 minutos.
8. Cuando la medición y el análisis hayan finalizado sonaran dos pitidos y aparecerá automáticamente el resultado (durante 20 segundos) en la pantalla: Heliprobe 0, Heliprobe 1 o Heliprobe 2.
9. El resultado se anotará en el formato ID-ADLAB-GU-21-F01 Hoja de Trabajo Serologías, recuerde que no debe quitar el BreathCard porque se eliminará el resultado de inmediato.
10. Inserte la tarjeta de protección y mantenga el analizador activado.

Criterios de rechazo para procesamiento

- Hora no identificada desde la toma de muestra.
- La bolsa no presenta el sticker del paciente.
- Que el viraje del indicador no esté totalmente de color amarillo.
- Que el BreathCard no llegue en la bolsa o llegue en la bolsa pero la boquilla llegue posicionada hacia la parte cerrada de la bolsa.
- El BreathCard llegue con polvo blanco en su superficie lo que indica que el filtro se rompió en el

proceso.

Notas:

- Si al obtener un resultado en el equipo de **1** " indeterminado" se debe liberar el reporte como indeterminado y se coloca la NOTA: Se valida resultado sin confirmar con segunda muestra paciente no cumple con las condiciones para la toma de muestra.

- En caso de que el paciente no cumpla con los criterios en la toma de muestra o el equipo falle se va a generar la nota Inserte nueva prueba y arroje resultado de 1.

Resultados

- **0**: Negativo.
- **1**: al límite (indeterminado).
- **2**: Positivo

Indicador de Diodo de Luz

Luz de diodo	Indicación de estado
Verde constante	Modo de espera Pulse cualquier tecla o inserte Heliprobe BreathCard para activarlo
Verde parpadeante	Listo para medición
Amarillo parpadeante	Medición en curso
Rojo constante	Error - Equipo Calibrando

BIBLIOGRAFIA

INSERTO METANEFRIAS BIOSYSTEMS SA 09/2014

INSERTO VANILMANDELIC ACID BIOSYSTEMS SA 09/2014