



HIV Ag/Ac

ELISA 4ª Generación

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección simultánea del antígeno p24 de HIV-1 y de anticuerpos anti HIV-1 y anti HIV-2

SIGNIFICACION CLINICA

Los virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1 y HIV-2) son los agentes causales del Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Estos retrovirus son transmitidos por la exposición a ciertos fluidos corporales infectados, principalmente secreciones genitales y sangre o productos contaminados derivados de la sangre y por pasaje a través de la placenta.

La evidencia serológica de la infección por HIV-1 y HIV-2 puede ser obtenida determinando la presencia de antígenos y anticuerpos en el suero de individuos en los que se sospecha que tienen la infección. Los antígenos pueden generalmente ser detectados en la fase aguda y durante la fase sintomática de la enfermedad. Los anticuerpos pueden ser detectados a lo largo de toda la infección, comenzando en la fase aguda o inmediatamente después de ella. Por ello es de fundamental importancia la utilización de una determinación de alta sensibilidad que pueda detectar antígenos y anticuerpos.

El ensayo de HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación está diseñado para detectar antígeno p24 así como anticuerpos contra HIV-1, HIV-1 grupo O y HIV-2.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Los pocillos de la policubeta están recubiertos con proteínas recombinantes y péptidos sintéticos de HIV-1 (gp41) y HIV-2 (gp36) y anticuerpos monoclonales anti-p24^(*). La muestra se incuba en los pocillos, si la misma contiene antígeno p24 y/o anticuerpos contra HIV-1 o HIV-2 se unirán a los antígenos y/o anticuerpos del pocillo. El material no unido es removido por lavado. En el paso siguiente se agrega el Conjugado 1 que contiene anticuerpos y antígenos marcados con biotina que se unirán a los antígenos/anticuerpos si están presentes en la muestra. Luego se agrega el Conjugado 2 (peroxidasa conjugada a estreptavidina) que se unirá al Conjugado 1. El conjugado no unido se remueve por lavado.

A continuación se agrega una solución conteniendo tetrametilbencidina (TMB) y peróxido de hidrógeno. Las muestras reactivas desarrollan color azul que vira al amarillo cuando la reacción se detiene con ácido sulfúrico (Stopper).

REACTIVOS PROVISTOS

Policubeta sensibilizada: policubeta de 96 pocillos recubiertos con proteínas recombinantes y péptidos sintéticos de HIV-1 y HIV-2 y anticuerpos monoclonales humanos anti-p24.
Diluyente de Muestra: buffer Tris 0,02 M conteniendo proteínas bovinas, cloruro de sodio y agente tensioactivo, pH 7,2, color azul.

Conjugado 1: solución conteniendo antígenos recombinantes y péptidos sintéticos de HIV-1 y HIV-2 y anticuerpos monoclonales humanos anti-p24 biotinilados en buffer fosfato 10 mM con proteínas bovinas, cloruro de sodio y agente tensioactivo, pH 7,2.

Conjugado 2 concentrado: estreptavidina conjugada con peroxidasa, color naranja.

Diluyente de Conjugado 2: buffer fosfato 10 mM con proteínas bovinas, cloruro de sodio y agente tensioactivo, pH 7,2.

TMB: solución de tetrametilbencidina 36 mM en dimetilsulfóxido (DMSO) 100%, (100x).

Diluyente de TMB: buffer citrato 40 mM y peróxido de hidrógeno 1,27 mM, pH 4,3.

Stopper: ácido sulfúrico 1 M.

Buffer de Lavado concentrado: buffer fosfato 250 mM, cloruro de sodio 3,45 M y agente tensioactivo, (25x), pH 6,4.

Control Positivo: suero humano inactivado, conteniendo anticuerpos anti-HIV, color rojo.

Control Positivo p24: solución de antígeno p24 de HIV-1 en buffer fosfato 10 mM, con proteínas bovinas, cloruro de sodio y agente tensioactivo, pH 7,2.

Control Negativo: suero humano normal no reactivo, inactivado, color amarillo.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada o desionizada.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipetas automáticas o semiautomáticas, regulables o fijas
- Tips descartables
- Material volumétrico para preparar diluciones
- Cronómetro
- Estufa a 37°C
- Guantes descartables
- Papel absorbente
- Hipoclorito de sodio
- Sistema de lavado de policubetas (manual o automático)
- Espectrofotómetro para lectura de policubetas

PRECAUCIONES

- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección. Los controles se

encuentran inactivados. Sin embargo deben emplearse como si se tratara de material infectivo.

- Los sueros controles han sido examinados para antígeno de superficie de Hepatitis B (HBsAg) y anticuerpos contra el virus de Hepatitis C (HCV), encontrándose no reactivos. Sin embargo, se recomienda manipularlos con las precauciones requeridas para muestras potencialmente infecciosas.
- Todos los materiales empleados en el ensayo deben ser tratados a fin de asegurar la inactivación de agentes patógenos. El método recomendado para este procedimiento es autoclavar durante 1 hora a 121°C. Los líquidos de desecho pueden ser desinfectados con hipoclorito de sodio (concentración final 5%) durante por lo menos 60 minutos.
- No intercambiar reactivos de distintos equipos y lotes.
- No emplear reactivos de otro origen.
- Las policubetas deben incubarse en estufa. Se debe evitar abrir la estufa durante la incubación. No usar baño de agua.
- Evitar que los vapores de hipoclorito provenientes de los recipientes para desechos biológicos u otras fuentes entren en contacto con la policubeta, ya que el hipoclorito afecta la reacción.
- Evitar el contacto del ácido sulfúrico (Stopper) y del DMSO (TMB) con la piel y mucosas. R36/38: irrita los ojos y la piel. R34: provoca quemaduras. S24/25: evítense el contacto con los ojos y la piel. S26: en caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S28: en caso de contacto con la piel, lávense inmediata y abundantemente con agua. S37/39: usar guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.
- Si cualquier reactivo entra en contacto con la piel o los ojos, lavar con abundante agua.
- Evitar el derrame de líquidos y formación de aerosoles.
- No pipetear con la boca. Usar guantes descartables y protección en los ojos durante la manipulación de las muestras y reactivos del ensayo.

PREPARACION DE REACTIVOS

Buffer de Lavado: a baja temperatura los componentes del reactivo pueden precipitar. En tal caso, calentar la solución a 37°C hasta su disolución completa. Para la obtención del buffer de lavado listo para usar, diluir el Buffer de Lavado concentrado (25x) con agua destilada o desionizada. Ej.: 40 ml en 960 ml para una policubeta.

Conjugado 2: en un tubo rotulado, diluir el Conjugado 2 concentrado (100x) en el Diluyente de Conjugado 2. Ej.: 200 ul en 20 ml para una policubeta.

Revelador: en un tubo rotulado, diluir la TMB concentrada (100x) en el Diluyente de TMB. Ej.: 200 ul en 20 ml para una policubeta. La TMB concentrada está disuelta en DMSO. Dado que la temperatura de fusión del DMSO es 18°C, la TMB debe alcanzar temperatura ambiente (20-25°C) y homogeneizarse bien antes de usar.

Policubeta sensibilizada, Diluyente de Muestra, Conjugado 1, Stopper, Control Positivo, Control Positivo p24 y Control Negativo: listos para usar.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar. Es importante que todo el material utilizado para la preparación esté limpio.

Buffer de Lavado concentrado y Stopper: se pueden conservar a 2-25°C.

Buffer de lavado: una vez diluido es estable 3 meses a temperatura ambiente (2-25°C).

Conjugado 2 diluido: una vez preparado es estable 24 horas a temperatura ambiente (2-25°C).

Policubeta sensibilizada: se provee cerrada y con desecante. No abrir el envoltorio hasta el momento de usar, ni antes que haya alcanzado temperatura ambiente, de lo contrario se favorecerá la condensación de humedad sobre la superficie de los pocillos. Los pocillos no utilizados deben conservarse dentro de la bolsa provista con desecante y entre 2-10°C, bien cerrada.

Revelador: una vez preparado se debe usar dentro de las 3 horas conservándolo a temperatura ambiente (2-25°C) y protegido de la luz. En caso de coloración, debe ser descartado.

MUESTRA

Suero o plasma no diluido

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: no se requieren para suero. Las muestras de plasma se pueden recoger con cualquier anticoagulante de uso habitual en la práctica transfusional.

c) Sustancias interferentes conocidas: no utilizar sueros o plasmas contaminados, hiperlipémicos o hemolizados. No se observan interferencias por bilirrubina hasta 30 mg/dl, ácido ascórbico hasta 50 mg/dl, muestras lipémicas hasta 1453 mg/dl de triglicéridos o muestras hemolizadas hasta 15 mg/dl de hemoglobina. Muestras conteniendo partículas deberán clarificarse mediante centrifugación.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento y transporte: la muestra se debe conservar refrigerada (2-10°C). En caso de no realizar el análisis dentro de las 72 horas se debe conservar a -20°C. No es recomendable realizar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento. Esto puede generar resultados erróneos. Los plasmas deberán descongelarse rápidamente por calentamiento durante unos minutos a 40°C (para limitar la precipitación de la fibrina). Si las muestras deben ser transportadas, embalar de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- 1- Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras 30 minutos antes de iniciar la prueba.
- 2- Preparar el volumen necesario de Buffer de Lavado.
- 3- Sacar el número de pocillos requeridos para el ensayo y volver a colocar el resto de la policubeta en su bolsa cerrada y con desecante, colocarla inmediatamente a 2-10°C.
- 4- En los pocillos a utilizar de la policubeta dispensar el Diluyente de Muestra, luego la muestra (M), el Control Negativo (CN) por triplicado, el Control Positivo (CP)

por duplicado y el Control Positivo p24 (p24) según el siguiente esquema:

	M	CP	p24	CN
Diluyente de Muestra	100 ul	100 ul	100 ul	100 ul
Control Positivo	-	100 ul	-	-
Control Positivo p24	-	-	100 ul	-
Control Negativo	-	-	-	100 ul
Muestra	100 ul	-	-	-

Para evitar la evaporación cubrir la policubeta con cinta autoadhesiva.

5- Incubar durante 60 minutos a 37°C.

6- Después de la incubación eliminar el líquido de cada pocillo por completo. Lavar 5 veces según instrucción de lavado (ver Procedimiento de Lavado).

7- Agregar Conjugado 1 listo para usar:

Conjugado 1	200 ul	200 ul	200 ul	200 ul
--------------------	--------	--------	--------	--------

Para evitar la evaporación cubrir la policubeta con cinta autoadhesiva.

8- Incubar el Conjugado 1 durante 30 minutos a 37°C. En forma paralela, preparar el Conjugado 2 diluido.

9- Después de la incubación eliminar el Conjugado 1 de cada pocillo por aspirado o invirtiendo la policubeta y golpeándola sobre papel absorbente. **NO LAVAR LA POLICUBETA ENTRE LA INCUBACION CON CONJUGADO 1 Y CONJUGADO 2.**

10- Agregar el Conjugado 2 diluido:

Conjugado 2 diluido	200 ul	200 ul	200 ul	200 ul
----------------------------	--------	--------	--------	--------

Para evitar la evaporación cubrir la policubeta con cinta autoadhesiva.

11- Incubar durante 30 minutos a 37°C.

12- Preparar el Revelador.

13- Después de la incubación eliminar el Conjugado 2 lavando 5 veces según instrucción de lavado (ver Procedimiento de Lavado).

14- Agregar el Revelador:

Revelador	200 ul	200 ul	200 ul	200 ul
------------------	--------	--------	--------	--------

15- Incubar 30 minutos a temperatura ambiente (18-25°C). Mantener la policubeta protegida de la luz y luego agregar:

Stopper	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul
----------------	-------	-------	-------	-------

16- Leer la absorbancia de la solución de los pocillos en espectrofotómetro a 450 nm o bicromática a 450/600-650 nm.

Nota: se recomienda efectuar siempre la lectura en forma bicromática. En caso de que la lectura sea monocromática, realizar un blanco de reactivos (omitiendo el Conjugado 2 diluido) que luego deberá ser restado de todos los valores de las muestras.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable entre 5 y 30 minutos, por lo que los resultados deben observarse dentro de ese lapso.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Los pocillos se lavan con 350 ul de Buffer de Lavado diluido. Asegurar que la altura alcanzada al llenar los pocillos no cause desbordes.

El tiempo mínimo que debe estar la solución de lavado en contacto con el pocillo es entre 30 y 60 segundos.

Garantizar que luego del último lavado no quede líquido residual. Realice un doble aspirado para eliminar el excedente de buffer, si persiste luego de este procedimiento, invertir la policubeta sobre papel absorbente y golpearla varias veces.

Nota: el procedimiento de lavado es crítico para el resultado del ensayo. Si queda buffer de lavado en el pocillo o si los pocillos no están completamente llenos se obtendrán resultados erróneos. No dejar que los pocillos se sequen durante el procedimiento. Los lavadores automáticos deben ser enjuagados con agua destilada o desionizada al final del día para evitar obstrucciones debido a las sales presentes en el buffer de lavado.

RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO

ETAPA	PROCEDIMIENTO	PRECAUCIONES/OBSERVACIONES
Buffer de lavado	Preparación de la solución de lavado	Disolución de los cristales de sales
Diluyente de Muestra	Agregar 100 ul de Diluyente de Muestra en cada pocillo	
Muestras	Agregar 100 ul de M, CN, CP y p24	Se observa cambio de color al agregar la muestra y los controles
Incubación	Cubrir los pocillos e incubar a 37°C durante 60 minutos	En estufa
Lavado	Lavar cada pocillo con 350 ul de buffer de lavado (5 veces)	Tiempo de contacto de la solución de lavado entre 30 y 60 segundos. Eliminar completamente el líquido residual de los pocillos
Conjugado 1	Agregar 200 ul de Conjugado 1	

Incubación	Cubrir los pocillos e incubar a 37°C durante 30 minutos	En estufa
Preparación	Conjugado 2	Durante la incubación con el Conjugado 1, preparar Conjugado 2
Conjugado 2	Eliminar el Conjugado 1 y dispensar 200 ul de Conjugado 2	No lavar entre el Conjugado 1 y el Conjugado 2 diluido
Incubación	Cubrir los pocillos e incubar a 37°C durante 30 minutos	
Preparación	Revelador	Durante la incubación con el Conjugado 2, preparar el Revelador
Lavado	Idem al lavado anterior	
Revelado	Agregar 200 ul de Revelador	
Incubación	Entre 18-25°C durante 30 minutos	Mantener la policubeta protegida de la luz
Detención	Agregar 50 ul de Stopper	
Lectura	Leer en espectrofotómetro	Leer entre los 5 y 30 minutos

CRITERIOS DE VALIDACION DE LA CORRIDA

La prueba se considera válida si se cumplen simultáneamente las siguientes condiciones:

1- Las lecturas de al menos 2 de los 3 Controles Negativos deben ser menores o iguales a 0,100 D.O. Si un Control Negativo no cumple con el criterio se debe excluir.

Ejemplo: cálculo del promedio de los Controles Negativos

Control	Absorbancia
1	0,019
2	0,016
3	0,016
Total	0,051

$$\text{CN} = \text{Total Abs} / 3 = 0,051 / 3 = 0,017$$

2- Las lecturas de los Controles Positivos debe ser mayor o igual a 0,800 D.O.

Ejemplo: lectura de los Controles Positivos

Control	Absorbancia
1	1,968
2	2,012

3- La lectura del Control Positivo para p24 debe ser mayor o igual a 0,400 D.O.

Nota: si uno o más criterios de los enunciados arriba no cumplen, repetir la corrida.

Cut-off

Calcular el valor del Cut-off sumando 0,180 al promedio de los Controles Negativos.

Ejemplo: promedio Controles Negativos = 0,017

$$\text{Valor Cut-off} = 0,180 + 0,017 = 0,197$$

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Muestras no reactivas: se consideran aquellas cuyo valor de absorbancia es menor al valor Cut-off.

Muestras inicialmente reactivas: se consideran aquellas cuyo valor de absorbancia es mayor o igual al valor Cut-off. Estas muestras deben ser reanalizadas por duplicado usando la muestra original.

Si los dos duplicados son negativos, la muestra se considera no reactiva para HIV.

Si por lo menos uno de los duplicados es positivo, la muestra se considera repetidamente reactiva y contiene antígeno p24 y/o anticuerpos contra HIV-1 o HIV-2.

Los resultados repetidamente reactivos deben corroborarse por un método confirmatorio, de acuerdo a la normativa legal vigente. Una muestra inicialmente reactiva puede ser no reactiva en las dos repeticiones. Esto puede deberse a:

- Contaminación cruzada de un pocillo no reactivo por una muestra con título elevado de anticuerpos anti-HIV y/o antígeno.
- Contaminación de la muestra durante la dispensación, imprecisión en el dispensado de la muestra y/o de los conjugados o TMB en el pocillo, reutilización de tips.
- Contaminación del pocillo con hipoclorito u otros agentes oxidantes.
- Muestras no coaguladas completamente, con restos de fibrina o fibronectina.

En ciertos casos una muestra no reactiva puede presentar una reacción falsamente reactiva, tanto en el análisis inicial como en sus repeticiones. Algunas causas de este fenómeno pueden ser:

- Contaminación de una muestra no reactiva por otra fuertemente reactiva.
- Contaminación de la muestra durante la extracción, procesamiento o conservación.
- Presencia de sustancias interferentes, tales como autoanticuerpos, anticuerpos dirigidos contra alguno de los componentes del reactivo, fármacos, etc.
- Contaminación del Revelador por el Conjugado 2.
- Utilización de muestras hemolizadas, suero coagulado en forma incompleta, plasma conteniendo fibrina, o muestras con contaminación microbiana. Este tipo de muestras pueden dar resultados falsamente reactivos.
- Dispensación y/o aspirado ineficiente de la solución de lavado (sistema obstruido).
- Aspirado insuficiente con un remanente de solución de lavado en los pocillos en el último lavado.

- Presencia de burbujas en los pocillos durante el proceso de lectura.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA.

No se debe utilizar pool de muestras.

No se deben utilizar otros fluidos corporales como la saliva, líquido cefalorraquídeo u orina.

El método colorimétrico de verificación del cargado de la muestra no permite verificar la exactitud de los volúmenes distribuidos sino solamente validar la presencia de la muestra. Ocasionalmente, al efectuar lecturas bicromáticas, pueden obtenerse absorbancias negativas que no invalidan la determinación. Esto se debe a que algunas muestras dan lecturas inferiores al Blanco de Reactivos.

CARACTERISTICAS ESPECIFICAS DE PERFORMANCE

Sensibilidad Clínica

a) Sensibilidad clínica con paneles de seroconversión comerciales (BBI, Boston Biomedica, Inc):

Paneles BBI		Resultados HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación	Resultados Western Blot (según BBI)
Nombre del panel	Días de recolección de muestras	Tiempo (días) en que la muestra se vuelve reactiva	
Panel BBI 916 P	0 4 9 15 30 35	15	30
Panel BBI 924 X	0 2 8 10 26 33 35 40	26	35 (indet)
Panel BBI 925 Y	0 10 18 22 44 49	44	44 (indet)
Panel BBI 926 Z	0 2 7 9 27 32	7	27
Panel BBI 927 AB	0 28 33 35 40	28	35
Panel BBI 929 AD	0 4 14 18 21 25 28	18	25-28
Panel BBI 931 AF	0 2 7 9 15 28 33 35 42	28	33
Panel BBI 935 AJ	0 10 16 21 24 28 43	28	43
Panel BBI 944 AT	0 2 7 9 14 16	7	14 (indet)
Panel BBI 945 AU	0 3 7 13 15 20	13	20
Panel BBI 946 AV	0 4 7 11	7	ND
Panel BBI 948 AX	0 18 20 23	23	No reactivo
Panel BBI 954 BD	0 2 7 10 14 17 21	21	No reactivo
Panel BBI 955 BE	0 3 7 12 14	7	todas indet
Panel BBI 956 BF	0 40 42 47 50	47	No reactivo
Panel BBI 957 BG	0 7 9 14 16 23 28	23	todas indet
Panel BBI 958 BH	0 2 7 9 15 17	9	No reactivo
Panel BBI 959 BI	0 7 9 14 19 21 26	7	14

ND: no determinada; indet: indeterminadas

b) Sensibilidad clínica en Paneles de Performance de BBI: En un estudio realizado sobre diferentes paneles comerciales internacionales, se obtuvieron los siguientes resultados:

PRZ204 (HIV 1/2 Combo Performance Panel): se detectaron 14 de las 14 muestras reactivas.

PRZ205 (HIV 1/2 Combo Performance Panel): se detectaron 14 de las 14 muestras reactivas.

PRB204 (Anti-HIV 1 Mixed Titer Performance Panel): se detectaron 23 de las 23 muestras reactivas.

PRB108 (Anti-HIV 1 Low Titer Performance Panel): se detectaron 14 de las 14 muestras reactivas.

c) Sensibilidad clínica en paneles de muestras reactivas anti-HIV: En un estudio realizado sobre 540 muestras de pacientes con infección por HIV-1 y HIV-2 confirmadas por diferentes métodos, se encontraron reactivas la totalidad de las muestras con el kit HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación.

Nº de muestras	Sensibilidad
361 [hospitales]	100%
203 [población de riesgo]	100%
153 muestras reactivas y 50 no reactivas	100%
26 muestras HIV-2	100%

Sensibilidad antígeno p24

El panel BBI PRA801 (HIV Antigen Sensitivity Panel) consiste en diluciones seriadas de cultivo de células infectadas por HIV-1. La concentración de antígeno p24 se determina con los estándares: WHO: HIV-1 p24 Antigen 90/636, DuPont HIV p24 y Sanofi HIV Antigen, detectándose hasta la dilución número 9 (concentración de p24 < 2 pg/ml, según BBI) con el kit HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación.

Especificidad Clínica

En un estudio realizado sobre 3250 muestras de sueros y plasmas provenientes de dos centros diferentes, ensayadas por el kit HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación, se encontraron 99,94% (3229/3231) de muestras no reactivas. De las 21 muestras inicialmente reactivas, 19 fueron reactivas, confirmadas por otros métodos.

Especificidad

En un estudio realizado sobre 561 muestras provenientes de una población de edad avanzada ensayadas por el kit HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación, se encontró una especificidad de 99,82%. Se estudió la posible aparición de reacciones cruzadas ensayando muestras provenientes de 266 individuos con diferentes condiciones clínicas que pueden ser causantes de reacciones inespecíficas para el ensayo HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación. Estas condiciones incluyen: mujeres embarazadas y pacientes hemodializados, con enfermedades autoinmunes o enfermedades infecciosas diferentes a HIV (Sífilis, HTLV, Hepatitis B, Hepatitis C, CMV, Adenovirus, otras). Solamente, una muestra perteneciente al grupo de enfermedades autoinmunes presentó una reactividad no específica. Para esta población la especificidad es de 99,62%.

Precisión

Se evaluó la reproducibilidad intra e inter-ensayo, como así

también la inter-lote. Los ensayos fueron realizados con muestras de diferentes niveles de reactividad.

	Promedio DO/CO	Intraensayo C.V.	Interensayo C.V.	Inter-lote C.V.
Muestra 1	2,44	9,19 %	10,88 %	13,44 %
Muestra 2	1,5	10,24 %	13,2 %	12,67 %
Control (+)	15,09	2,12 %	2,13 %	2,52 %
Control (-)	0,074	14,68 %	13,58 %	23,42 %

n = 144

LIMITACIONES DEL METODO

- La variabilidad de los virus HIV-1 y HIV-2 no permite excluir la posibilidad de una infección por HIV-1 o HIV-2. Ningún método conocido puede ofrecer completa seguridad.
- Toda técnica ELISA puede presentar resultados falsamente reactivos.
- Un resultado no reactivo no excluye la posibilidad de infección por HIV.
- Un resultado reactivo debe ser confirmado por otro test.

PRESENTACION

Equipo para 96 determinaciones (Cód. 1723451).

Equipo para 192 determinaciones (Cód. 1723551).

BIBLIOGRAFIA

- Center for Disease Control and prevention (2001). Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Antibody testing.
- Weber, B, Fall EH, Berger AM, and Doerr W. - Reduction of Diagnostic Window by New Fourth Generation Human Immunodeficiency Virus Screening Assays - J. Clin. Microbiol. 36/8:2235 (1998).
- Saville RD, Constantine NT, Cleghorn FR, Jack N, Bartholomew C, Edwards J, Gomez P and Blattner WA. - Fourth-Generation Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Simultaneous detection of Human Immunodeficiency Virus Antigen and Antibody. - J. Clin. Microbiol. 39/7:2518 (2001).
- Roques P, Robertson DL, Souquiere S, Damond F, Ayoub A, Farfara I, Depienne C, Nerrienet E, Dormont D, Brun-Vezinet F, Simon F and Mauciere P. - Phylogenetic analysis of 49 newly derived HIV-1 group O strains: High viral diversity but no group M-like subtype structure - Virology 302/2:259 (2002).
- Yilmaz G. - Diagnosis of HIV infection and laboratory Monitoring of its Therapy - J. Clin. Virol. 21/3:187 (2001).

EXPLICACION DE LOS SIMBOLOS

Policubeta **Sensib.**

Policubeta sensibilizada

Diluyente **Muestra**

Diluyente de Muestra

Conjugado **1**

Conjugado 1

Conjugado **2 Conc.**

Conjugado 2 concentrado

Conjugado **2 Diluy.**

Diluyente de Conjugado 2

TMB

TMB

TMB **Diluy.**

Diluyente de TMB

Stopper

Stopper

Buf. Lavado **Conc.**

Buffer de Lavado Concentrado

Control **+**

Control Positivo


Control **p24**

Control Positivo p24

Control **-**

Control Negativo

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad


 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. Nº: 5879/06

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina