


<p><i>República de Colombia</i></p>  <p><i>Gobernación de Santander</i></p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	1 de 20

República de Colombia



Gobernación de Santander

MANUAL PARA LA REALIZACIÓN DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TÉCNICA ELISA

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma



 <p>República de Colombia Departamento de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	2 de 20

TABLA DE CONTENIDO


1. OBJETIVO	4
2. ALCANCE	4
3. NORMATIVIDAD APLICABLE	4
4. RESPONSABILIDADES.....	4
5. DEFINICIONES Y/O ABREVIATURAS.....	4
6. CONDICIONES GENERALES	5
7. FUNDAMENTO DEL METODO DE ELISA	7
7.1 VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA VIH.....	7
7.2 ENSAYO INMUNOENZIMATICO.....	11
8. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS.....	12
9. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.....	13
10. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA	13
11. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA	13
11.1 EQUIPOS.....	13
11.2 REACTIVOS	13
11.2.1 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS	14
11.3 CONTROLES.....	15
11.4 MATERIALES DE REFERENCIA	15
12. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL PROCEDIMIENTO	15
12.1 MONTAJE EQUIPO DE DSX	16

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	3 de 20

12.2 MONTAJE MANUAL	17
13. CONTROL DE CALIDAD ANALITICO.....	17
14. ANÁLISIS Y EXPRESION DE RESULTADOS.....	18
14.1 CÁLCULO DE LOS RESULTADOS	18
14.2 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	19
15. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS.....	19
16. EXAMENES COMPLEMENTARIOS	19
17. DOCUMENTOS DE REFERENCIA	20
18. CONTROL DE CAMBIOS	20
19. ANEXOS	20

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	4 de 20

1. OBJETIVO

Establecer los lineamientos generales para la detección de antígenos y anticuerpos de HIV mediante la utilización de la técnica de ELISA para su detección.

2. ALCANCE

Este documento se tomará como referencia única para el procesamiento de muestras de suero que lleguen al laboratorio para la detección de antígenos y anticuerpos de HIV que se procesan por ELISA.

3. NORMATIVIDAD APLICABLE

- NTC ISO/IEC 17025:2017

4. RESPONSABILIDADES

Coordinador Del Laboratorio Departamental De Salud Pública: se encargará de revisar y aprobar el actual documento, teniendo en cuenta que se cumplan con las normas establecidas, y de esta manera avalar los resultados emitidos por el laboratorio.

Profesional Responsable De La Sección De Virología Del Laboratorio Departamental De Salud Pública: se encargará de aplicar los lineamientos descritos en el documento con estándares de calidad, oportunidad y avalará los resultados que se procesen mediante este ensayo.


Será responsabilidad del profesional del Laboratorio de Inmunoserología aplicar lo descrito con calidad y oportunidad, así como, garantizar los resultados que se generan del mismo.

El personal del área deberá dar cumplimiento a lo consignado en el MANUAL DE ROLES Y RESPONSABILIDADES DEL PERSONAL DEL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA MI-GS-MA-30

5. DEFINICIONES Y/O ABREVIATURAS

Anticuerpo: Los anticuerpos so moléculas que producen los linfocitos B como respuesta a un antígeno.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia GOBIERNO DEPARTAMENTAL DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	5 de 20

Antígeno: Sustancia o molécula que haga que el cuerpo produzca una respuesta inmunitaria contra ella

ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color.

6. CONDICIONES GENERALES

Los equipos utilizados en el procesamiento de muestras para diagnóstico de VIH requieren de las siguientes condiciones ambientales:

DSX

Temperatura: 15 a 30°C

Humedad relativa: 15% a 85%

LAVADOR AUTOMATIZADO

Temperatura: 10 a 40°C

Humedad relativa: 10% a 80%

LECTOR DE ELISA

Temperatura: 10 a 40°C

Humedad relativa: 10% a 80%


El Laboratorio realiza monitoreo de Temperatura y Humedad Relativa y se registran en el formato CONTROL TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA MI-GS-RG-37. Durante el montaje de la prueba MUREX VIH Ag/Ab Combination se requiere que la temperatura del área de procesamiento se encuentre entre 18°C y 30°C:

El personal encargado del proceso debe estar entrenado en las técnicas de diagnóstico virológico, conocer los factores de riesgos biológicos y las condiciones de bioseguridad tipo 2 en el manejo, conservación y descarte de material biológico.

Aplicar normas de Bioseguridad durante el procesamiento de muestras y utilizar los elementos de protección personal que incluye: bata, guantes, caretas y protección ocular.

Las muestras deben manejarse con las debidas precauciones como material potencialmente infectocontagioso.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	6 de 20

Dado que ni la inactivación ni el método de test pueden excluir con total seguridad el riesgo de infección, se recomienda tratar este tipo de material con el mismo cuidado que una muestra de paciente.

Precauciones y recomendaciones de bioseguridad para el profesional


Lea siempre las instrucciones del inserto antes de abrir un estuche nuevo.

- Evite la contaminación microbiana, trabajando con todos los cuidados exigidos bajo las condiciones de bioseguridad tipo 2.
- Ningún reactivo o elemento que este derramado, dañado, averiado y vencido deberá ser utilizado.
- Si ocurre cualquier contacto con la piel, lave con abundante agua.

Precauciones en el análisis:

- No utilice los reactivos transcurrida la fecha de caducidad. Se debe evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede afectar a su rendimiento y producir resultados erróneos.
- No modifique el Procedimiento del ensayo ni utilice reactivos de otros fabricantes ni de otros lotes, a menos que se indique que el reactivo pueda utilizarse indistintamente. No reduzca el tiempo de incubación recomendado.
- Antes del uso, deje que los reactivos y las muestras alcancen una temperatura entre 18°C y 30°C. Después del uso, vuelva a almacenarlos bajo las condiciones antes indicadas.
- Lave, con ácido clorhídrico (2 mol/L), todos los materiales de vidrio que vaya a utilizar con los reactivos y, a continuación, enjuáguelos con agua destilada o desionizada de primera calidad.
- Para almacenar los reactivos y las muestras no utilice refrigeradores que se descongelen automáticamente.
- No exponga los reactivos a la luz intensa ni a vapores de hipoclorito durante el almacenamiento o la incubación.
- Evite que los pocillos se sequen durante el ensayo. No cause contaminación cruzada en los reactivos.
- Utilice siempre la misma pipeta para la solución de sustrato de los ensayos. Asimismo, deberá utilizar siempre la misma pipeta para el conjugado.
- No toque ni salpique el borde de los pocillos con el conjugado. No pipetee expulsando aire hacia afuera. Se recomienda, siempre que sea posible, el pipeteo con la técnica inversa.
- Asegúrese de que el fondo de la placa esté limpio y seco y de que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de la lectura de la placa.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	7 de 20

- Evite contaminar los micro pocillos con el talco de los guantes desechables. Si utiliza procesadores de micro placas automáticos:

- i) No es necesario tapar las placas ni secarlas golpeándolas.
- ii) No permita que los líquidos del sistema contaminen las muestras o los reactivos.
- iii) Se debe excluir la posibilidad de contaminación cruzada entre ensayos cuando valide ensayos en procesadores completamente automáticos.

7. FUNDAMENTO DEL METODO DE ELISA

7.1 VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA VIH

El VIH ocasiona el SIDA y, además, interfiere con la capacidad del cuerpo de combatir infecciones. El virus se puede transmitir mediante el contacto con la sangre, el semen o los fluidos vaginales infectados.

Al cabo de pocas semanas de la infección con el VIH, pueden aparecer síntomas como fiebre, dolor de garganta y fatiga. Luego, la enfermedad suele ser asintomática hasta que se convierte en SIDA. Los síntomas incluyen pérdida de peso, fiebre o sudores nocturnos, infecciones recurrentes y fatiga.

No existe una cura para el SIDA, pero la observancia estricta de la terapia antirretroviral puede disminuir significativamente el progreso de la enfermedad y evitar infecciones y complicaciones secundarias.

El diagnóstico se realiza por la detección de anticuerpos anti VIH-1, VIH-2 y Antígeno p24 en suero o plasma.

Para diagnóstico por laboratorio de la infección por VIH hay variedad de ensayos de laboratorio, el tipo de ensayo y la secuencia en la que se realizan están establecidos en las guías de práctica clínica basadas en la evidencia científica para el VIH.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma


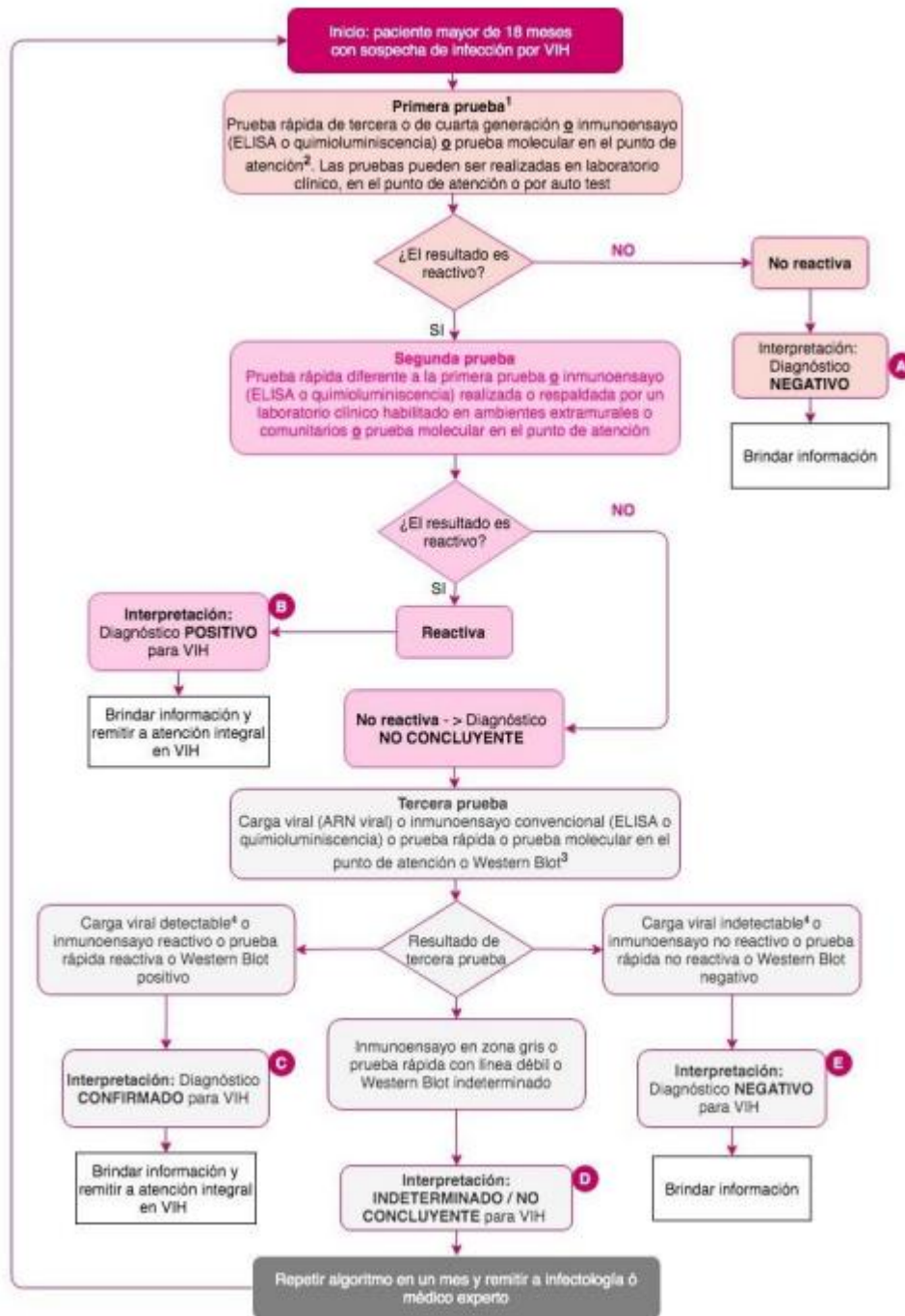
 <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	8 de 20

Figura 1. Algoritmo diagnóstico mayores de 18 meses.



Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma


 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	9 de 20

Tabla 1. Interpretación de resultados del algoritmo diagnostico mayores de 18 meses.

Escenario	Primera prueba ¹	Segunda prueba ²	Tercera prueba ³	Resultado final para VIH	Intervención
A	Resultado no reactivo	-	-	Negativo	Brindar información
B	Resultado reactivo	Resultado reactivo	-	Positivo	Brindar información. Remitir a atención integral en VIH. Notificar al Sivigila.
C	Resultado reactivo	Resultado no reactivo	Positiva	Positivo	Brindar información. Remitir a atención integral en VIH. Notificar al Sivigila.
D	Resultado reactivo	Resultado no reactivo	Indeterminado / No concluyente	Indeterminado	Repetir algoritmo en un mes y remitir a infectología o médico experto.
E	Resultado reactivo	Resultado no reactivo	Negativa	Negativo	Brindar información.

¹**Primera prueba:** prueba rápida de tercera o de cuarta generación o inmunoensayo (ELISA o quimioluminiscencia) o prueba molecular en el punto de atención. Las pruebas pueden ser realizadas en laboratorio clínico, en ambientes extramurales o comunitarios o por autotest.

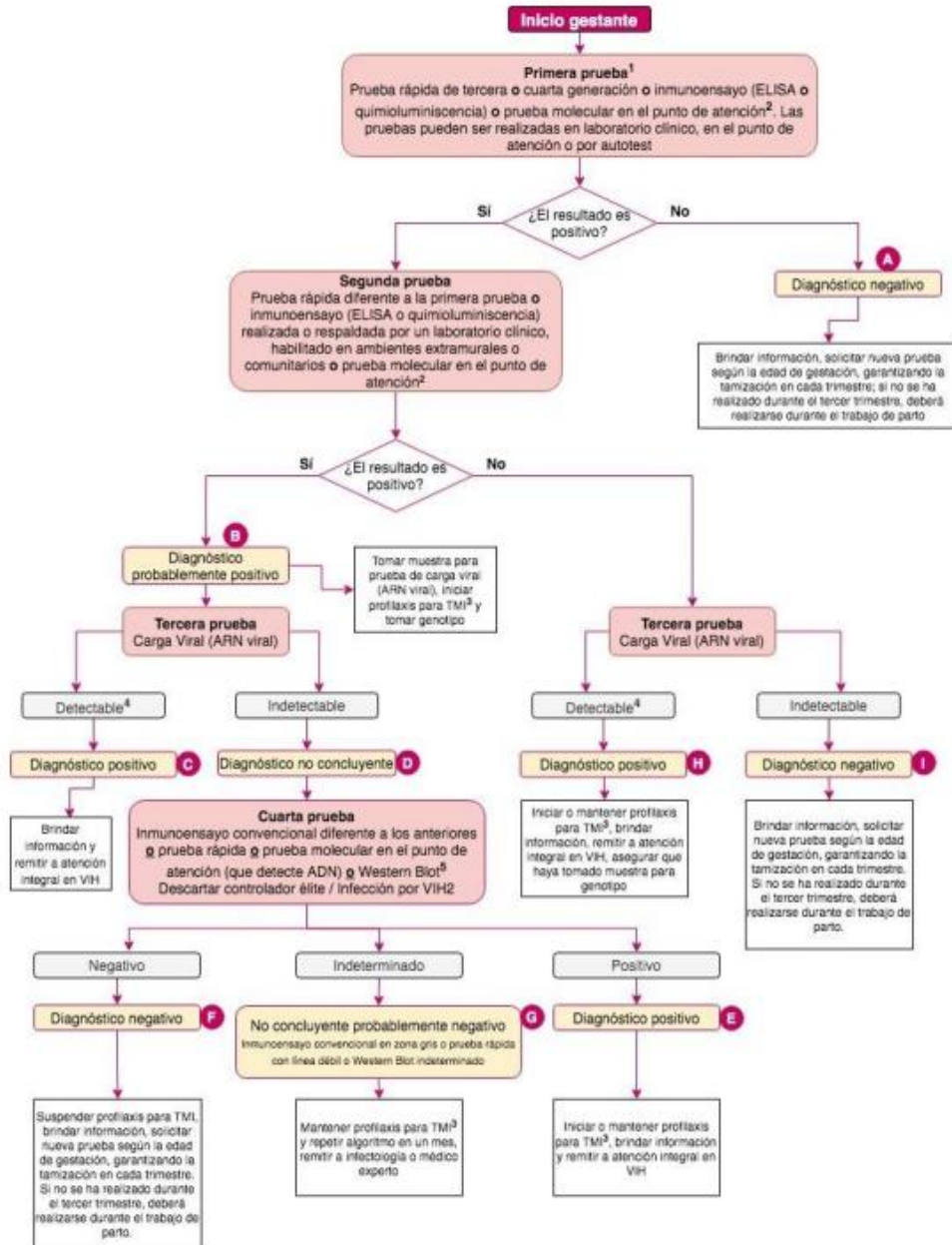
²**Segunda prueba:** prueba rápida diferente a la prueba presuntiva o inmunoensayo (ELISA o quimioluminiscencia) realizada o respaldada por un laboratorio clínico habilitado, en ambientes extramurales o comunitarios o prueba molecular en el punto de atención.

³**Tercera prueba:** carga viral de VIH-1 (ARN viral cuantitativo) o inmunoensayo convencional (ELISA) o prueba rápida o prueba molecular en el punto de atención o Western Blot

Fuente: elaboración propia.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

Figura 2. Algoritmo diagnóstico en gestantes.



Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma


 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	11 de 20

Tabla 2. Interpretación de resultados del algoritmo diagnóstico en mujeres gestantes.

Escenario	Primera prueba ¹	Segunda prueba ²	Carga viral ³	Cuarta prueba ⁴	Resultado final para VIH	Intervención
A	Negativa	-	-	-	Negativo	Brindar información, solicitar nueva prueba según la edad de gestación, garantizando la tamización en cada trimestre. Si no se ha realizado durante el tercer trimestre, deberá realizarse durante el trabajo de parto
B	Positiva	Positiva	-	-	Probablemente Positivo	Tomar muestra inmediatamente para carga viral y genotipo. Remitir a atención integral de VIH. Iniciar profilaxis para TMI de inmediato. En ningún momento se debe retardar el inicio de la TAR en la gestante. Explicar a la paciente los riesgos y beneficios, baja probabilidad de falsos positivos.
C	Positiva	Positiva	Detectable	-	Positivo	Notificar el caso al Sivigila. Mantener o iniciar profilaxis para TMI. Mantener en atención integral para VIH.
D	Positiva	Positiva	Indetectable	-	No concluyente	Solicitar cuarta prueba. Mantener o iniciar profilaxis para TMI. Mantener en atención integral para VIH.
E	Positiva	Positiva	Indetectable	Positivo	Positivo	Mantener o iniciar protocolo de profilaxis para TMI. Notificar el caso al Sivigila. Mantener en atención integral para VIH. Asegurar que se haya tomado muestra para genotipo.
F	Positiva	Positiva	Indetectable	Negativo	Negativo	Brindar información, solicitar nueva prueba según la edad de gestación, garantizando la tamización en cada trimestre. Si no se ha realizado durante el tercer trimestre, deberá realizarse durante el trabajo de parto.
G	Positiva	Positiva	Indetectable	Indeterminado	No concluyente, probablemente negativo	Repetir el algoritmo después del parto. Remitir a especialista para evaluación. Mantener o iniciar profilaxis para TMI hasta evaluación por especialista.

Escenario	Primera prueba ¹	Segunda prueba ²	Carga viral ³	Cuarta prueba ⁴	Resultado final para VIH	Intervención
H	Positiva	Negativa	Detectable	-	Positivo	Mantener o iniciar profilaxis para TMI. Notificar el caso al Sivigila. Mantener en atención integral para VIH. Asegurar que se haya tomado muestra para genotipo.
I	Positiva	Negativa	Indetectable	-	Negativo	Brindar información. Solicitar nueva prueba según la edad de gestación, garantizando la tamización en cada trimestre. Si no se ha realizado durante el tercer trimestre, deberá realizarse durante el trabajo de parto

Abreviaturas: TMI: transmisión materno-infantil.

¹**Primera prueba:** prueba rápida de tercera o de cuarta generación o inmunoensayo (ELISA o quimioluminiscencia) o prueba molecular en el punto de atención. Las pruebas pueden ser realizadas en laboratorio clínico, en ambientes extramurales o comunitarios o por autotest.

²**Segunda prueba:** prueba rápida diferente a la prueba presuntiva o inmunoensayo (ELISA o quimioluminiscencia) realizada o respaldada por un laboratorio clínico habilitado, en ambientes extramurales o comunitarios o prueba molecular en el punto de atención.

³**Tercera prueba:** carga viral de VIH-1 (ARN viral cuantitativo).


⁴**Cuarta prueba:** Inmunoensayo convencional diferente a los anteriores o prueba rápida o prueba molecular en el punto de atención (que detecte ADN) o Western Blot.

Fuente: elaboración propia.

7.2 ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO

El ensayo Murex HIV Ag/Ab Combination se basa en micropocillos recubiertos de péptido sintético que representa regiones inmunodominantes de VIH-1 (0) y VIH-2,

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	12 de 20

proteína recombinante derivada de las regiones de la envoltura de VIH-1 y VIH-2, y una proteína por del VIH, junto con anticuerpos monoclonales frente al p24 del VIH-1. El conjugado es una mezcla de los mismos epítomos antigénicos y de diferentes anticuerpos monoclonales, también frente al p24, todos ellos marcados con peroxidasa de rábano.

Las muestras del ensayo y los sueros de control se incuban en los pocillos y el antígeno core reactivo del VIH o los anticuerpos anti-VIH presentes en la muestra o en el suero de control se unen a los anticuerpos o a los antígenos de los micropocillos. La muestra y el exceso de anticuerpos se eliminan mediante lavado. Seguidamente, se añaden el conjugado, que se une a su vez al antígeno core del VIH o a los anticuerpos específicos ya unidos a los reactivos del pocillo. En las muestras que no contengan antígeno core reactivo ni anticuerpos específicos, el conjugado no se une al pocillo.

Después del lavado que elimina el conjugado no unido, se añade a los pocillos una solución con 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) y peróxido de hidrógeno. En los pocillos con conjugado unido aparece un color azul verdoso que se convierte en naranja y que se puede leer a 450nm una vez que la reacción se para al añadir ácido sulfúrico.


8. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS.

- Se deben seguir exactamente las instrucciones indicadas en los apartados Procedimiento del ensayo e Interpretación de los resultados de estas instrucciones de uso.
- Este ensayo sólo se ha evaluado para su uso con muestras suero y plasma con EDTA o Citrato.
- Un resultado negativo con un ensayo para la detección de antígenos /anticuerpos no excluye la posibilidad de infección por el VIH.
- Se pueden obtener resultados reactivos no repetibles con cualquier enzimoimmunoanálisis.
- Las muestras diluidas o coaguladas pueden dar resultados erróneos.
- Un resultado positivo con el ensayo MUREX HIV Ag/Ab Combination se debe confirmar con al menos otro ensayo.
- Este ensayo no se ha validado para su uso con muestras de cadáveres.

Las causas más habituales de errores son:

- La muestra, el conjugado o el sustrato no se han añadido en los pocillos de manera adecuada.
- El sustrato se ha contaminado con el conjugado.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	13 de 20

- Contaminación con conjugados de otros ensayos.
- Las sondas del sistema de lavado están total o parcialmente obstruidas.
- El líquido de lavado no se ha aspirado totalmente y queda líquido en los pocillos.
- El fondo de los pocillos no está limpio y seco y hay burbujas en la superficie del líquido antes de la lectura de las placas.
- Fallo en la lectura a la longitud de onda adecuada (450 nm) o no se ha utilizado la longitud de onda de referencia adecuada (entre 620 nm y 690 nm).

9. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Con este ensayo se pueden utilizar muestras de suero y plasma recogido con EDTA o Citrato. Asegúrese de que las muestras de suero estén totalmente coaguladas. Se deben eliminar las partículas en suspensión mediante centrifugación. Si las muestras se van a preparar con anticoagulantes líquidos se debe tener en cuenta el efecto de la dilución.

Las muestras serán identificadas con un código consecutivo asignado en la recepción de muestras clínicas y quedarán registrado en la base de datos del evento HIV. Procedimiento TRAZABILIDAD DE MUESTRAS RECEPCIONADAS PARA DIAGNÓSTICO, VIGILANCIA Y/O CONTROL DE CALIDAD MI-GS-PR-100

10. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras son estables entre 2°C a 8°C hasta 72 horas, transcurrido el tiempo se pueden almacenar a -15°C.

11. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA


11.1 EQUIPOS

- Equipo DSX para ELISA automatizado
- Lavador automático Thermo científico
- Lector de absorbancia Thermo científico
- Incubadora a 37+/- 1oC.
- Pipeta multicanal con puntas desechables para 10UI
- Pipetas de precisión entre 100 y 500 uL.
- Probetas graduadas entre 250 y 500 ML.

11.2 REACTIVOS

- Diluyente de muestra: Listo para usar

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia GOBIERNO DEPARTAMENTAL DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	14 de 20

- Micropocillos recubiertos de antígenos de VIH y anticuerpos monoclonales (96 pozos): Listo para usar
- Solución concentrada de lavado: Preparar solución de trabajo
- Conjugado: Preparar reactivo de trabajo
- Diluyente de conjugado: Para preparar reactivo de trabajo “Conjugado”
- Concentrado de sustrato: Preparar reactivo de trabajo
- Diluyente de sustrato: Para preparar reactivo de trabajo “Sustrato”
- Solución de parada de reacción (1N H₂SO₄): No suministrada en el kit

11.2.1 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- Solución concentrada de lavado: Diluir 1:19 partes con agua destilada (Ejemplo: preparar 1 litro, diluya 50 ml de solución de lavado en 950 ml de agua destilada). Almacenar a temperatura entre 18°C y 30°C hasta por 30 días.
- Reconstitución de Conjugado: Golpee suavemente el frasco de conjugado sobre la superficie de trabajo para eliminar los materiales que se hayan podido quedar pegado al tapón de goma. Vierta por completo el contenido del frasco de diluyente de conjugado en el frasco de conjugado. Tápelolo y mézclelo invirtiéndolo suavemente y deje que se rehidrate durante al menos 30 minutos agitándolo ocasionalmente. El conjugado reconstituido es de color rojo. Los conjugados reconstituidos pueden mezclarse e introducirse de nuevo en los frascos de diluyente de conjugado en caso necesario.
- Solución de sustrato: Para preparar la solución de sustrato, añada una parte de diluyente de sustrato incoloro a la misma cantidad de concentrado de sustrato naranja en una cubeta de vidrio o de plástico limpia. Es importante que siga este orden para realizar la mezcla y que las pipetas y los materiales de vidrio que utilice para preparar la solución de sustrato estén limpios. La solución de sustrato también se puede preparar vertiendo todo el contenido del frasco del diluyente de sustrato en el frasco del concentrado de sustrato. 1 frasco de solución de sustrato es suficiente para el análisis de al menos 5 placas. Estable entre 2°C y 8°C hasta un máximo de 2 días. Ver tabla 3

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma


 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	15 de 20

Tabla 3. Volumen necesario de concentrado de sustrato y de diluyente de sustrato por número de pocillos y placas.

NÚMERO DE POCILLOS											NÚMERO DE PLACAS			
8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	96	1	2	3	4
CONCENTRADO DE SUSTRATO (ml)														
0,5	1	2	2,5	2,5	3	3,5	4	4,5	4,5	6	6	12	18	22
DILUYENTE DE SUSTRATO (ml)														
0,5	1	2	2,5	2,5	3	3,5	4	4,5	4,5	6	6	12	18	22

11.3 CONTROLES

Se utilizarán los controles incluidos en cada kit.

- Control negativo
- Control positivo para anti-VIH-1
- Control positivo para anti-VIH-2
- Control positivo para p24 del VIH-1

11.4 MATERIALES DE REFERENCIA

Los controles utilizados se encuentran incluidos dentro de cada kit de reactivos de acuerdo al analito a procesar.

Después de usar, volver a guardar los controles de 2°C a 8 °C o desecharlos en recipiente de paredes rígidas y depositar este en bolsa roja, al momento de terminado el kit.


12. DESCRIPCION GENERAL DEL PROCEDIMIENTO

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Antes de proceder con el análisis llevar los reactivos y muestras a temperatura ambiente (18°C a 30°C)

1. Verificar en la BASE DE DATOS DE HIV las muestras a procesar
2. Diligenciar el formato HOJA DE TRABAJO INMUNOSEROLOGIA PRUEBA ELISA MI-GS-RG-644
3. Reconstituya y mezcle el conjugado, prepare la solución de sustrato y el líquido de lavado.


Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	16 de 20

12.1 MONTAJE EQUIPO DE DSX

1. Realizar el encendido y mantenimiento del equipo siguiendo las indicaciones del INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL EQUIPO DSX MI-GS-IN-18.
2. Realice el ingreso de las muestras y la selección de la prueba MUREX HIV AG/AB siguiendo las indicaciones del INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL EQUIPO DSX MI-GS-IN-18.
3. De inicio al procesamiento de las muestras siguiendo las indicaciones del INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL EQUIPO DSX MI-GS-IN-18.
4. A continuación, el equipo inicia el procesamiento de las muestras realizando los siguientes pasos:
 - El equipo agrega 25 ul de Diluyente de muestra dentro de cada pozo
 - El equipo agrega 100ul de muestra o control en cada pozo (según número de muestras programadas)
 - El equipo lleva la placa a incubación durante 60 minutos a temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
 - Una vez finalizado el tiempo de incubación, el equipo realiza el lavado: agrega 500ul de solución de lavado. (Se realiza el procedimiento de lavado 5 veces).
 - El equipo agrega 100 ul de Reactivo conjugado a cada pozo.
 - El equipo lleva la placa a incubación durante 30 minutos a temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
 - El equipo realiza el lavado: agrega 500 ul de solución de lavado. (Se realiza el procedimiento de lavado 5 veces).
 - El equipo agrega 100 ul de Solución sustrato a cada pozo
 - El equipo lleva la placa a incubación durante 30 minutos a temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
 - El equipo agrega 50 ul de Solución de parada a cada pozo.
5. El equipo lleva la microplaca a la estación de lectura y realiza la lectura a una longitud de onda de 450nm (longitud de onda de referencia entre 620 nm y 690 nm) y emite el resultado de las absorbancias.
6. Registrar los resultados en el formato HOJA DE TRABAJO INMUNOSEROLOGIA PRUEBA ELISA MI-GS-RG-644
7. Realizar el mantenimiento y apagado del equipo siguiendo las indicaciones del INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL EQUIPO DSX MI-GS-IN-18.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	17 de 20

12.2 MONTAJE MANUAL


1. Agregue 25 ul de Diluyente de muestra dentro de cada pozo
2. Agregue 100 ul de muestra o control en cada pozo
3. Cubra con una cubierta de microplaca y dejar rotando durante 60 minutos a durante 60 minutos a temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
4. Descartar los contenidos de la microplaca por decantación. Golpee y seque la placa con papel absorbente.
5. Agregue 500 ul de solución de lavado. (Se realiza el procedimiento de lavado 5 veces).
6. Agregue 100 ul de Reactivo conjugado a cada pozo.
7. Cubra con una cubierta de microplaca y dejar rotando durante 30 minutos a durante 60 minutos a temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
8. Repetir el paso 5
9. Agregue 100 ul de Solución sustrato a cada pozo
10. Cubra con una cubierta de microplaca y dejar rotando durante 30 minutos a temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
11. Agregue 50 ul de Solución de parada a cada pozo.
12. Realizar el encendido y mantenimiento del equipo siguiendo las indicaciones del INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL LECTOR DE PLACAS DE ELISA MI-GS-IN-27
13. Leer la absorbancia a 450 nm (usando una longitud de onda de referencia de 620-690nm) siguiendo las indicaciones del INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL LECTOR DE PLACAS DE ELISA MI-GS-IN-27
14. Registrar la absorbancia obtenida a partir de la impresión del lector de microplaca en el formato HOJA DE TRABAJO INMUNOSEROLOGIA PRUEBA ELISA MI-GS-RG-644.
15. Registre los resultados de las concentraciones en el formato HOJA DE TRABAJO INMUNOSEROLOGIA PRUEBA ELISA MI-GS-RG-644
16. Realizar el mantenimiento y apagado del equipo siguiendo las indicaciones del INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL LECTOR DE PLACAS DE ELISA MI-GS-IN-27.

13. CONTROL DE CALIDAD ANALITICO

Los resultados de un ensayo se valida en el formato CARTA CONTROL INMUNOSEROLOGIA MI-GS-RG-642 y serán válidos si los controles cumplen los siguientes criterios:

- Controles Negativos: La absorbancia media es inferior a 0.15

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia GOBIERNO DE SANTANDER</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	18 de 20

- Controles positivos: La absorbancia de cada control positivo es superior a 0.8 por encima de la absorbancia media del control negativo.
- En el Formato CARTA CONTROL INMUNOSEROLOGIA MI-GS-RG-642 se realizará el seguimiento a los controles de cada kit y la validación de la prueba según indicaciones para cada evento.
- Los ensayos que no cumplan estos criterios se deben repetir.
- Si los resultados obtenidos incumplen repetidamente los criterios de control de calidad o el funcionamiento correcto del ensayo, póngase en contacto con el Centro de Asistencia Técnica local.
- Calibración periódica de equipos se incluyen los equipos de virología en el plan metrológico del Laboratorio Departamental anualmente e intervenciones intermedias de ser necesario, evidenciado en las hojas de vida de los equipos.

14. ANÁLISIS Y EXPRESION DE RESULTADOS

14.1 CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Cuando se calculen y se interpreten los resultados del ensayo, se debe interpretar cada placa por separado.

Control negativo

Calcule la absorbancia media de los controles negativos

Ejemplo:

Pocillo 1: 0.084

Pocillo 2: 0.086

Pocillo 3: 0.070

Total: 0.240


Media del control negativo: $0.240/3=0.080$

Si la absorbancia de uno de los pocillos del control negativo es superior a 0.15 por encima de la media de los 3 pocillos, elimine este valor y calcule nueva media del control negativo a partir de los 2 replicados restantes.

Valor del punto de corte

Calcule el valor del punto de corte sumando 0.150 a la media de los replicados del control negativo.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SALUD Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA</p> <p>LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	19 de 20

A. Lectura en el equipo DSX

Cuando el procesamiento y lectura del montaje se realice en el equipo DSX, este realiza los cálculos del punto de corte y emite el reporte con la absorbancia y la interpretación del resultado.

B. Lectura en el equipo lector de ELISA

1. Registrar las absorbancias en el formato HOJA DE TRABAJO INMUNOSEROLOGIA PRUEBA ELISA MI-GS-RG-644
2. Registrar los resultados de los controles de calidad en el formato de CARTA CONTROL INMUNOSEROLOGIA MI-GS-RG-642, el cual calcula el Punto de corte.

14.2 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultados no reactivos

Las muestras cuyos valores de absorbancia sean inferiores al valor del punto de corte se consideran negativas

Resultados reactivos

Las muestras cuyos valores de absorbancia sean iguales o superiores al valor del punto de corte se consideran inicialmente reactivas.

15. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS


Los resultados de las absorbancias, índices o concentraciones obtenidos de cada técnica y registrados en las hojas de trabajos se registrarán en la BASE DE DATOS DE HIV al igual que la fecha, hora y responsable del montaje de la prueba.

Los resultados de estas pruebas serán emitidos en el formato INFORME CONSOLIDADO CONTROL DE CALIDAD INDIRECTO INMUNOSEROLOGIA MI-GS-RG-585 y deberán interpretarse de acuerdo al INSTRUCTIVO EVALUACION DEL DESEMPEÑO VIROLOGIA Y BANCOS DE SANGRE MI-GS-IN-15.

16. EXAMENES COMPLEMENTARIOS

Las pruebas confirmatorias incluyen Western blot y Carga viral.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma

 <i>República de Colombia</i> <i>Gobernación de Santander</i>	MANUAL PARA LA REALIZACION DE HIV Ag/Ab COMBINATION MUREX POR LA TECNICA DE ELISA LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-109
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	14/08/2024
		PÁGINA	20 de 20

17. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Inserto DiaSorin MUREX HIV Ag/Ab Combination. Primera edición. Fecha: 08/2009

18. CONTROL DE CAMBIOS

CONTROL DE CAMBIOS				
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	REVISÓ	APROBÓ
0	14/08/2024	Emisión inicial del documento	ALBA ROCIO ORDUZ A Coordinador Grupo LSP ZULEMA GALVIS Directora de Salud Integral SAMUEL SANTAMARÍA Director de Planeación Y Mejoramiento en salud.	EDWIN ANTONIO PRADA RAMIREZ Secretario de Salud

19. ANEXOS

- INSTRUCTIVO DE MANEJO DE EQUIPO DSX MI-GS-IN-18
- INSTRUCTIVO DE MANEJO EQUIPO LECTOR DE ELISAS
- INSTRUCTIVO DE MANEJO EQUIPO LAVADOR DE ELISAS

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Mayté Gicela González	-	Jenny Osma