

Immunoensayo de la Enzima para la Determinación de Anticuerpos IgG del Virus de Citomegalovirus (CMV) en Suero Humano

Solo para diagnóstico In Vitro
Para uso exclusivo en laboratorios clínicos o de gabinete
Conservar entre 2°C a 8°C

RESUMEN Y PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Paso	Temp. ambiente 20 - 25°C	Volumen	Tiempo de incubación
1	Dilución de la muestra 1:40 (5µL / 200µL)		
2	Muestras diluidas, controles y calibrador	100 µL	30 minutos
3	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
4	Enzima conjugada	100 µL	30 minutos
5	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
6	TMB Substrato Cromogénico	100 µL	15 minutos
7	Solución de paro	100 µL	
8	Lectura a una densidad óptica de 450 nm		

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

El citomegalovirus es un virus del herpes y un destacado factor biológico que causa anomalías congénitas y complicaciones entre las personas que reciben transfusiones masivas de sangre y terapia inmunosupresiva. Aproximadamente la mitad de las mujeres embarazadas que contraen una infección primaria transmiten la enfermedad a su feto. Cuando es llevada al útero, la infección puede causar retraso mental, ceguera y/o sordera.

Las pruebas serológicas para detectar la presencia del anticuerpo para CMV pueden proporcionar una valiosa información con respecto al historial de una infección previa, un diagnóstico de infección activa o reciente, así como una selección de sangre para transfusiones en neonatos y recipientes inmuno-comprometidos. CMV IgG es un método serológico preciso para detectar el anticuerpo CMV IgG e identificar la infección CMV.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El antígeno CMV purificado está cubierto sobre la superficie de los micropozos. El suero diluido del paciente es agregado a los pozos, y el anticuerpo específico de CMV IgG, si se encontrara presente, se adhiere al antígeno. Todos los materiales no adheridos son lavados para su retiro. Después de agregar la enzima conjugada, éste se adhiere al complejo del antígeno-anticuerpo. El exceso de enzima conjugada es lavada para su retiro y el substrato cromogénico TMB es agregado. La reacción catalítica de la enzima conjugada es detenida a un tiempo específico. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad de anticuerpo específico de IgG en la muestra. Los resultados son interpretados por un lector micro-elisas comparados de una manera paralela con un calibrador y controles.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba:

1. Placa de micropozos cubiertos de antígeno CMV purificado
2. Enzima Conjugada. 1 Frasco
3. Calibrador Negativo. 0 UI/mL. 1 Vial
4. Calibrador Cut-off. 1.2 UI/mL. 1 Vial *Índice CMV G= 1.0*
5. Calibrador Positivo. 6 UI/mL. 1 Vial
6. Calibrador Positivo. 18 UI/mL. 1 Vial
7. Control Negativo. Rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
8. Control Positivo. Rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
9. Solución Lavado Concentrado 20x. 1 Frasco
10. Diluyente de Muestra. 1 Frasco
11. Substrato Cromogénico TMB. 1 Frasco
12. Solución de Paro. 1 Frasco

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

1. Almacenaje del equipo de 2 a 8 °C.
2. Siempre mantenga los micro pozos herméticamente sellados en la bolsa con el desecante. Recomendamos que use hasta agotar todos los pozos dentro de las 4 semanas después de la apertura inicial de la bolsa.
3. Los reactivos son estables hasta la fecha de expiración del equipo.
4. No exponer los reactivos al calor, sol o luz fuerte durante el almacenaje o uso.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

1. Materiales potencialmente bio-peligrosos: Los calibradores y controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y se han encontrado no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B así como el anticuerpo de HIV con los reactivos autorizados por la FDA. Sin embargo, como con cualquier método de prueba no se puede ofrecer una completa seguridad de que los virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén ausentes, estos reactivos deben manejar el Nivel 2 de Bio seguridad, como es recomendado en los Centers for Disease Control / National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories". 1984
2. No pipetear con la boca, no fumar, comer o beber en las áreas en que las muestras o equipos son manejados.
3. Se entiende que los componentes en este equipo son para el uso de una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben mezclarse.
4. Estos productos contienen componentes preservados con azida de sodio. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías para formar una azida metálica explosiva. En disposición, vacíe con un gran volumen de agua.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DEL ESPÉCIMEN

1. Recolecte muestras sanguíneas y separe el suero.
2. Los especímenes pueden ser refrigerados a 2-8°C por hasta siete días o congelados por hasta seis meses. Evite el congelado y descongelado repetitivo de la muestra de suero.



PREPARACIÓN PARA EL ENSAYO

1. Prepare solución buffer de lavado 1x. Agregar agua destilada o desionizada a la solución de lavado concentrado 20x para obtener un volumen final de 1 litro.
2. Ponga todos los especímenes y reactivos del equipo de prueba a temperatura ambiente (20 - 25°C) y mezcle suavemente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Colocar el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
2. Preparar una dilución 1:40 de las muestras de prueba, control negativo, control positivo y calibrador al agregar 5 µL de la muestra a 200 µL del diluyente de muestra. Mezcle bien.
3. Dispensar 100 µL de suero diluido, calibrador, y controles en los pocillos apropiados. Para el blanco de reactivo, vierta 100 µL de diluyente de muestra en la posición del pozo A1. Mezcle e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
4. Retirar el líquido de todos los pocillos y repita el lavado tres veces con el buffer de lavado.
5. Dispensar 100 µL de enzima conjugada a cada pocillo e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Retirar la enzima conjugada de todos los pozos. Repita el lavado 3 veces con el buffer de lavado (1x)
7. Dispensar 100 µL de TMB substrato cromogénico a cada pocillo e incube por 15 minutos a temperatura ambiente.
8. Agregar 100 µL de solución de paro para detener la reacción. *Nota: Asegúrese que no existan burbujas de aire en cada pozo antes de la lectura.*
9. Lea a 450 nm D.O. con un lector de micro-pozos.

CONTROL DE CALIDAD

La corrida de la prueba podría ser considerada válida siempre y cuando los siguientes criterios sean cumplidos:

1. El valor D.O. del blanco de reactivo comparado con aire de un lector de micro elisa y ser menor de 0.150.
2. Si el valor D.O. del Calibrador es menor de 0.250, la prueba no es válida y debe ser repetida.
3. El Índice CMV G para el Control Positivo y Negativo debe encontrarse en el rango descrito en las etiquetas.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Calcule la media del valor X_c del calibrador duplicado.
2. Calcule la media de los duplicados del control positivo, el control negativo y las muestras de pacientes.
3. Calcule el Índice de CMV IgG de cada determinación al dividir los valores de la media de cada muestra entre el valor X_c de la media del calibrador.

Ejemplo de Resultados Típicos:

Calibrador de Cut-off Índice CMV G = 1.0

D.O. Calibrador = 0.685, 0.695

$X_c = 0.690$

D.O. Muestra del Paciente = 1.373, 1.457

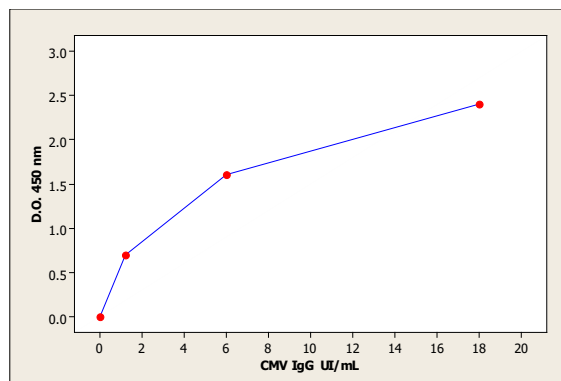
$X_s = 1.415$

Índice de CMV G = $1.415 / 0.690 = 2.05$

CÁLCULO CUANTITATIVO DE CMV IgG

Para un cálculo cuantitativo de los niveles anti-CMV IgG de especímenes positivos en UI/mL, traiga las D.O. de los calibradores positivo y Cut-off sobre el eje Y en la gráfica comparando su concentración anti-CMV IgG

correspondiente de 0, 1.2, 6 y 18 UI/mL sobre el eje X. Los cálculos de los niveles en los sueros de los pacientes son leídos de la gráfica utilizando sus valores D.O. individuales. Por ejemplo:



INTERPRETACIÓN

- **NEGATIVO:** El índice CMV G menor de 0.90 es seronegativo para el anticuerpo IgG para CMV. (<1.1 UI/mL)
- **INDETERMINADO:** Índice CMV G entre 0.91-0.99 es indeterminado. La prueba debe ser repetida.
- **POSITIVO:** Índice de CMV G de 1.00 o mayor es seropositivo. Esto indica una exposición previa al virus CMV. (> 1.2 UI/mL)

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

PRECISIÓN

La precisión del ensayo (análisis) fue evaluada por medio de la prueba de tres diferentes sueros de ocho réplicas durante 3 días. El C.V. de intra-ensayo y el inter-ensayo están resumidos enseguida:

	Negativo	Positivo Bajo	Positivo
Intra-ensayo	8.9%	8.2%	7.2%
Inter-ensayo	9.7%	8.3%	7.8%

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Sueros lipémicos, hemolizados, ictericos o inactivados por el calor pueden causar resultados erróneos.
2. Al igual que con otros ensayos serológicos, los resultados de este ensayo se debe utilizar en conjunto con la información disponible a partir de la evaluación clínica y de otros procedimientos de diagnóstico.

REFERENCIAS

1. Voller, a., J.E. Bidwell, et al. *Manual of clinical immunology. Chapter 69.* Rose, N. and Friedman, H.eds. *Am.Soc.Microbiol.p.506, 1985.*
2. Cremer, N.E. *Antibodies in serodiagnosis of viral infection. P.73.* In Lennett E.H. ed. *Laboratory diagnosis of viral infection.P.73* In Lennett E.H. ed. *Laboratory diagnosis of viral infection. MerceL Dekker, Inc,New York,1985.*
3. Starr,S.E. and H.M. Friedman. "Human CMV" Chapter 65. In *Manual of Clin. Microbiol.,4th ed. Lennett, E.H. et a; ed. Am. Soc. Microbiol. Pp. 77 719,1985*

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS
1155 CHESS DRIVE No. 121
FOSTER CITY, CA 94404 USA