

## Ensayo inmunoenzimático para la Determinación de Anticuerpos IgM 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 IgM es un método serológico preciso para detectar el anticuerpo CMV IgM 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 IgM, 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 IgM 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 purificados (12x8)
2. Solución absorbente. 1 Frasco
3. Calibrador. Valor del factor (f) impreso en la etiqueta. 1 vial
4. Control negativo. Rango impreso en la etiqueta. 1 vial
5. Control positivo. Rango impreso en la etiqueta. 1 vial
6. Solución lavado concentrado 20x. 1 Frasco
7. Reactivo de enzima conjugada. 1 Frasco
8. Substrato cromogénico TMB. 1 Frasco
9. 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 almacenamiento o uso.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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 Bioseguridad, 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 amortiguadora de lavado 1x. Agregar agua destilada o desionizada a la solución de lavado concentrado 20x para

**Diagnóstica**  
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

#### Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.  
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria  
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México  
**Lada sin costo:** 01 800 440 0404 c/ 10 líneas  
**Tel:** 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

- 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 amortiguador 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 pocillos. Repita el lavado 3 veces con el amortiguador de lavado.
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.

#### CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Para obtener el valor del Cut-off, multiplique la D.O. del calibrador por el factor (f) impreso en la etiqueta del calibrador.
2. Calcule el índice IgM para cada determinación dividiendo los valores de las densidades ópticas de cada muestra obtenida entre el valor obtenido del Cut-off.

Ejemplo:

Valor del factor impreso en la etiqueta (f) = 0.4

Calibrador D.O. = 1.100

Cut off D.O. = 1.100 x 0.4 = 0.44 (Índice IgM = 1)

Muestra del paciente D.O. = 0.580

IgM Index = 0.580 / 0.44 = 1.32 (Resultado Positivo)

Muestra del paciente D.O. = 0.320

IgM Index = 0.320 / 0.44 = 0.73 (Resultado Negativo)

#### CONTROL DE CALIDAD

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

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

#### INTERPRETACIÓN

- **NEGATIVO:** El índice CMV M menor de 0.90 es seronegativo para el anti-cuerpo IgM para el citomegalovirus.

- **INDETERMINADO:** Índice CMV M entre 0.91-0.99 es indeterminado. La prueba debe ser repetida.
- **POSITIVO:** Índice de CMV M de 1.00 o mayor es seropositivo para CMV.

#### 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	7.8%	6.0%	5.8%
Inter-ensayo	8.9%	7.4%	6.2%

##### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Para evitar resultados de prueba IgM falsos negativos y falsos positivos causado por la presencia del IgG específico y el Factor Reumatoide (FR) en algunos especímenes, los reactivos abastecidos en este equipo de prueba han sido formulados para resolver estas interferencias. Sin embargo, los especímenes con FR extremadamente alto y anticuerpos auto inmunes, la posibilidad de estas interferencias no pueden ser excluidas totalmente.
2. Al igual que otras pruebas serológicas, los resultados obtenidos de CMV IgM ELISA sirven solamente como ayuda para el diagnóstico y deben ser interpretados en relación con otros hallazgos clínicos y de diagnóstico.
3. Las respuestas de IgM podrían variar en diferentes personas. Ha sido reportado que el 10%-30% de infantes podrían no desarrollar respuestas del anticuerpo IgM a pesar de la infección CMV congénita. Además, hasta un 27% de adultos con infección CMV primaria podrían no demostrar una respuesta de IgM. Así, la ausencia de IgM específico de CMV no necesariamente excluye la posibilidad de una infección con CMV.
4. La presencia o ausencia de CMV IgG ó IgM en mujeres embarazadas es de valor limitado para predecir la infección CMV congénita. Sin embargo, la presencia de IgM específico en la circulación del neonato es indicativo de infección. Ya que las muestras de suero obtenidas muy prematuramente en la infección podrían no contener anticuerpo IgM detectable, una muestra posterior debe ser obtenida y probada 7 a 14 días después. En el caso de sangre en el cordón, debe tenerse cuidado de evitar contaminación por medio de la sangre materna, y es prudente confirmar resultados de anticuerpo IgM positivos al probar un espécimen de seguimiento del neonato.

##### 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.* Mercei 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