MANUAL

DE

SEROLOGÍA

Laboratorio de Análisis Clínicos FCQ.UACH

	ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
Nombre	Q.B.P. Verónica Guadalupe Dávila Rodríguez	M.A. Carmen Alicia Murillo Nevárez	M.A. Oscar René Valdez Domínguez
Puesto	Departamento de Serología	Coordinador Técnico	Director del Laboratorio
Fecha	11 Enero del 2018	11 Enero del 2018	11 Enero del 2018
Firma			

CONTENIDO

CONTENIDO 2
ANTICUERPOS ANTI VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA 3
ANTICUERPOS ANTI HEPATITIS C 9
ANTIESTREPTOLISINAS 15
ANTIGENO DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B 20
ANTIGENO PROSTÁTICO 26
FACTOR REUMATOIDE 35
PRUEBA DE EMBARAZO 41
PROTEINA C REACTIVA 49
PRUEBA RAPIDA DE 2019-nCoV IgG/IgM 54
PRUEBA RAPIDA DE ANTIGENO SARS-CoV-2 63
REACCIONES FEBRILES 79
ROSA DE BENGALA 85
VENEREAL DISEASE RESEARCH LABORATORY 89
HISTORIAL DE REVISIONES 94

ANTICUERPOS ANTI VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)

Propósito del examen	El ensayo VIH es una prueba inmunocromatografía rápida y de oro coloidal mejorado para la determinación cualitativa de anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia Humana (VIH) en la sangre total, suero o plasma. Este ensayo es una prueba de tamiz y todos los resultados positivos deberán ser confirmados utilizando una prueba confirmativa alterna tal como lo es Western Blot. La prueba está diseñada para su uso con profesionales en el cuidado de la salud. El virus que produce inmunodeficiencia en el humano, descubierto en 1983, es un retrovirus y ha sido identificado como el agente etiológico para el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), y el complejo relacionado al sida. El sida se caracteriza por cambios en la población de los linfocitos de las células T, que juegan un papel clave en el sistema de defensa inmune. En las personas infectadas el virus produce una depleción de una sub población de linfocitos T, llamadas células T ayudadoras, lo cual deja a esos pacientes sensibles a las infecciones producidas por microrganismos oportunistas y ciertas enfermedades malignas. Las principales vías de transmisión son el contacto sexual, la exposición a sangre contaminada o a productos sanguíneos (incluyendo el compartir jeringas y agujas contaminadas) y transmisión de madre ha recién nacido. El virus del VIH consiste de una molécula RNA genómica protegida por un cápside y una cubierta. La cubierta VIH es el principal objetivo de la respuesta humoral. La presencia del virus en los pacientes ocasiona que el sistema inmune inicie la producción de anticuerpos. La detección de esos anticuerpos se puede utilizar como herramienta de diagnóstico.

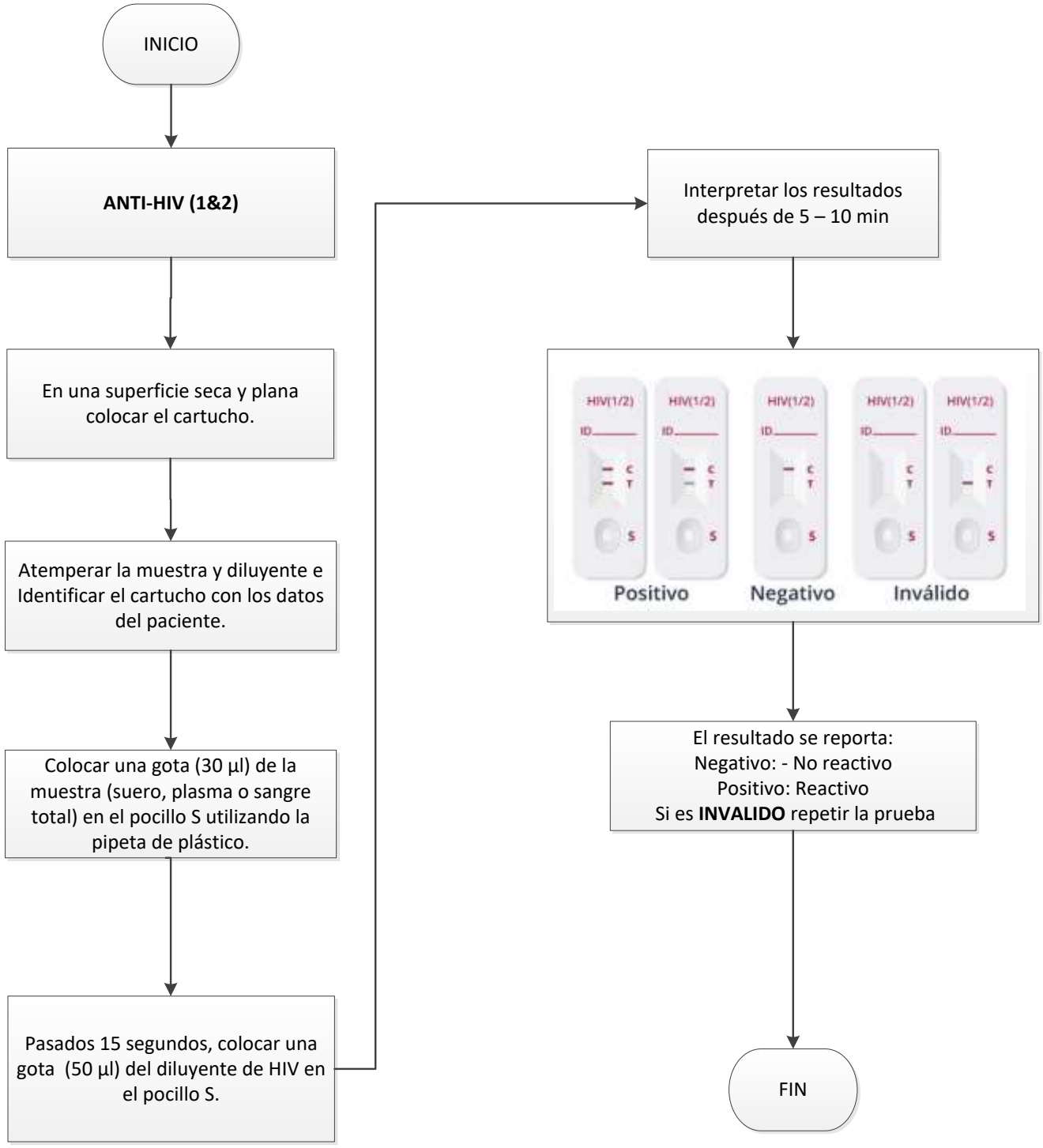
	El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es el agente causal del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). El método general para determinar la infección con VIH es observado en la presencia de anticuerpos contra el virus mediante un método de EIA (Elisa) seguida por la confirmación del Western Blot.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	Es una prueba visual cualitativa simple que detecta anticuerpos en la sangre total, suero o plasma. La prueba está basada en inmunocromatografía. En el ensayo se inicia con la aplicación de la muestra problema al pocillo de muestra. El antígeno conjugado con oro-coloidal embebido en el pocillo de muestra reacciona con los anticuerpos de VIH presentes en la sangre, suero o plasma formando el complejo Anticuerpo-VHI/Conjugado, el cual es capturado por un antígeno de VHI recombinante inmovilizado en una membrana y formando una banda colorida en la región de prueba. Una muestra negativa no produce una banda colorida debido a la ausencia del complejo conjugado de oro coloidal / anticuerpos VHI. Los antígenos utilizados en la prueba de conjugados son proteínas recombinantes que corresponden a regiones altamente inmunoreactivas de VIH-1 y VIH-2. Una banda coloreada en la región control aparece al final de la prueba sin considerar el resultado de la prueba. Esta banda control es el resultado de la unión del conjugado de oro coloidal al anticuerpo anti VIH inmovilizado en la membrana. La banda control indica que el conjugado de oro coloidal es funcional.
Características de desempeño	<u>Especificidad:</u> En estudios de laboratorio, 63 casos negativos de muestras de sangre total fueron evaluados usando EIA y Western Blot como pruebas de referencia. El estudio dio 100% de especificidad para la prueba. <u>Sensibilidad:</u>

	En el mismo estudio, fue evaluado con 32 muestras de sangre total positivas confirmadas. La sensibilidad encontrada de fue de 100%, relativo al consenso con resultados de EIA y pruebas de soporte por Western Blot.
Tipo de muestra	Sangre total: 1. Colectar la muestra de sangre total siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio. 2. Se deberá utilizar tubos heparinizados para la colección de la muestra. No emplear muestras de sangre hemolizada. 3. La muestra de sangre deberá ser utilizada inmediatamente después de la colección. Suero o plasma: 1. Colectar las muestras de suero o plasma siguiendo los mismos procedimientos regulares de laboratorio. 2. Almacenaje: Las muestras deberán ser refrigeradas si no se procesan el mismo día que son colectadas. Las muestras deberán ser congeladas si no se van a procesar dentro de los 3 días posteriores a la toma de muestra. 3. Evitar congelamientos y descongelamientos más de 3 veces antes de usar. Se puede emplear 0.1 % de Azida de Sodio como conservador sin que este afecte el resultado. Ver Manual de toma de muestra MAN-TM.01
Preparación del paciente	Ver del manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos	Tubo Vacutainer dorado o rojo para la obtención de suero sanguíneo. Tubo morado con heparina para la sangre total. Referencia Manual de toma de muestra MAN-TM.01.
Equipo y reactivos requeridos	✓ Centrifuga y Kit de prueba para la detección de VIH (1y2): ✓ Kit: Cartuchos De prueba Diluyente de muestra Instructivo de uso Pipeta de plástico incluida en cada sobre ✓ No proporcionados: Contenedores para colección de

	muestras y cronómetro o reloj.
Controles ambientales y de seguridad	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia del Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01, Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI, MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	No abrir los sobres sellados hasta que esté listo para realizar la prueba. 1. Dejar que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente. 2. Abrir el sobre, sacar el cartucho y colocarlo en una superficie seca. 3. Identificar los cartuchos para cada muestra o control. 4. Colocar 30 µl (una gota) de la muestra o el control en el pocillo S, utilizando la pipeta de plástico. 5. Posteriormente colocar 50 µl (una gota) del diluyente de muestra. 6. Interpretar los resultados después de 5 a 10 minutos.
Procedimientos de control de calidad	Se ha incluido un control del proceso en la prueba de cartucho para indicar que el volumen de la muestra fue suficiente y se agregó correctamente al pocillo, así como determinar que la migración de la muestra fue correcta y que el oro coloidal se disolvió.
Interferencias	1. Solo la muestra que no esté hemolizada y que tenga buena fluidez puede ser utilizada en esta prueba. 2. Las muestras frescas son las mejores, pero igualmente se pueden utilizar muestras refrigeradas. Las muestras congeladas no pueden ser utilizadas después de 3 días. 3. No agitar las muestras. Introducir una pipeta justo debajo de la superficie de la muestra para colectar la alícuota. 4. No utilizar este producto más allá de la fecha de caducidad.

Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	No aplica.
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	No reactivo y Reactivo.
Intervalo reportable de los resultados del examen.	No reactivo, Reactivo e Invalido
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica
Valores de alerta o críticos.	Reactivo. Realizar la prueba confirmatoria por Western Blot y/o EIA.
Interpretación clínica del laboratorio	1 Reactivo: En adición a la banda control, también aparece una banda coloreada distinta en la región de prueba. Una concentración baja se observará una banda un poco más leve. 2 No Reactivo: Solamente aparece una banda en la región de control. 3 Invalido: No aparece ninguna banda de prueba ni de control. La muestra debe correrse nuevamente utilizando otro cartucho de prueba nuevo. Un resultado NO REACTIVO no significa Negativo, esto depende del periodo de ventana, por lo cual se deberá realizar la prueba a los tres y seis meses para asegurar el resultado NO REACTIVO referente a la situación de riesgo del paciente. El resultado REACTIVO deberá confirmarse con una prueba de EIA y RIA.
Fuentes potenciales de variación	No aplica.
Referencia	Inserto del Reactivo de HIV.

DIAGRAMA DE FLUJO



ANTICUERPOS ANTI HEPATITIS C (HCV)	
Propósito del examen	La prueba rápida Anti-HCV es una prueba de inmunocromatografía de oro coloidal mejorada para la determinación cualitativa de anticuerpos contra el virus de la Hepatitis C (HCV) en sangre total, suero o plasma. Esta prueba es de escrutinio y todos los casos positivos deberán ser confirmados utilizando un método alternativo como Western Blot.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	El método general para determinar la infección por HCV es observando la presencia de anticuerpos contra el virus por un método de EIA (Elisa) seguido de la confirmación de Western Blot. La prueba Anti-HCV es una prueba cualitativa simple y visual que detecta anticuerpos en la sangre total, suero o plasma. La prueba está basada en inmunocromatografía y puede dar el resultado dentro de un tiempo de 5 a 10 minutos. El ensayo empieza con la aplicación de la muestra al pocillo de muestra y se agrega diluyente de muestra inmediatamente. El conjugado de antígeno-HCV-oro coloidal embebido en el cojinete donde se deposita la muestra reacciona con los anticuerpos Anti-HCV presentes en la sangre total, suero o plasma formando el complejo: conjugado/anticuerpo HCV. Conforme la mezcla migra a lo largo de la tira, el complejo Anticuerpo VHC/conjugado es capturado por una proteína A unida al anticuerpo inmovilizado en una membrana formando una banda colorida en la región de la prueba. Una muestra negativa no produce una línea de prueba debido a la ausencia del complejo Anticuerpo HCV/conjugado. Los antígenos utilizados en la prueba son proteínas recombinantes correspondientes a regiones “core” NS_3, NS_4 y NS_5 altamente inmunoreactivas del HCV. Una banda control colorida en la región de control aparece al final del procedimiento

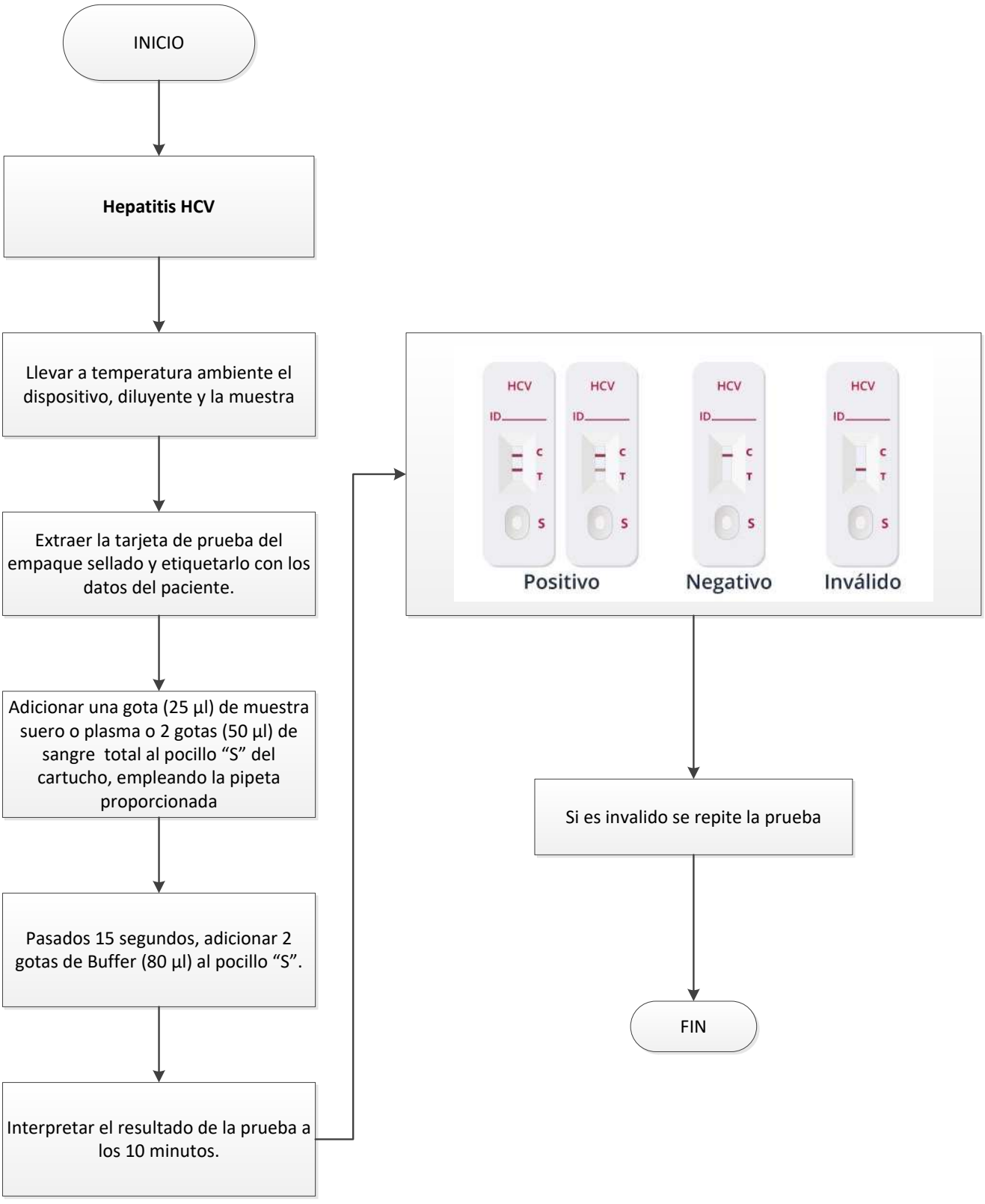
	independientemente del resultado del ensayo. Esta banda control es el resultado de la unión del conjugado del oro coloidal a un anticuerpo Anti HCV inmovilizado en la membrana. La línea control indica que el conjugado de oro coloidal es funcional. La ausencia de la misma indica que es una prueba inválida.
Características de desempeño	Especificidad: La especificidad del producto Rapid Anti-HCV está basada en estudios clínicos empleando muestras confirmadas de sueros negativos del banco de sangre y pacientes de hospitales en E.U.A. (66 muestras) y China (90 muestras). Los estudios fueron desempeñados comparando los resultados de la prueba Rapid Anti-HCV con la ELISA de Abbott como referencia. La especificidad global hallada fue de 97 - 99 %. Sensibilidad: En los mismos estudios mencionados anteriormente, la prueba Rapid Anti-HCV fue evaluada con 61 muestras de suero positivos. (E.U.A: 31 muestras y China 30 muestras). Las 61 muestras fueron reactivas.
Tipo de muestra	Sangre total: 1. Colectar la muestra de sangre total siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio. 2. Se deberá utilizar tubos heparinizados para la colección de la muestra. No emplear muestras de sangre hemolizada. 3. La muestra de sangre deberá ser utilizada inmediatamente después de la colección. Suero o plasma: 1. Colectar las muestras de suero o plasma siguiendo los mismos procedimientos regulares de laboratorio. Almacenaje: Las muestras deberán ser refrigeradas, si no se van a procesar el mismo día que se colecta. Las muestras deberán ser congeladas si no se van a procesar dentro de los 3 días posteriores a la toma de muestra. Evitar congelamientos y

	descongelamientos más de 3 veces antes de usar. Se puede emplear 0.1 % de azida de sodio como conservador.
Preparación del paciente	Referencia al manual de toma de toma de muestra, Man-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos	Tubo oro con activador de coagulación o tubo morado con EDTA-K_2 para la obtención de la muestra.
Equipo y reactivos requeridos	✓ Cartuchos de prueba individuales en sobres con su desecante. ✓ Pipetas de plástico ✓ Diluyente de muestra ✓ Inserto ✓ No proporcionados: Cronometro y centrifuga.
Controles ambientales y de seguridad	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia del Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01, Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI, MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración	No aplica.
Pasos del procedimiento	✓ Llevar a temperatura ambiente el dispositivo, diluyente y la muestra. Extraer la tarjeta de prueba del empaque sellado. 1. Adicionar una gota (10µl) de muestra de sangre total, suero o plasma al pocillo "S" del cartucho, empleando la pipeta proporcionada. 2. Dispensar dos gotas de diluyente de muestra al pocillo "D" después de que la muestra haya sido adicionada. 3. Interpretar el resultado de la prueba de 15 a 20 minutos. NOTA: 1. Aplicar la superficie cantidad de diluyente de muestra es esencial para un resultado de prueba válido. Si la migración no se observan en la ventana de la muestra después de un minuto, adicionar una gota más de diluyente al pocillo de muestra.

	2. El resultado reactivo puede aparecer tan pronto pase un minuto para las muestras con nivel de anticuerpos Anti HCV altos. 3. No interpretar un resultado después de 20 minutos.
Procedimientos de control de calidad	Se ha incluido un control en la prueba de cartucho para indicar que el volumen de la muestra fue suficiente y se agregó correctamente al pocillo, así como determinar que la migración de la muestra fue correcta y que el oro coloidal se disolvió.
Interferencias	1. Solo la muestra que no esté hemolizada y que tenga buena fluidez puede ser utilizada en esta prueba. 2. Las muestras frescas son las mejores, pero igualmente se pueden utilizar muestras refrigeradas. Las muestras congeladas no pueden ser utilizadas después de 3 días. 3. No agitar las muestras. Introducir una pipeta justo debajo de la superficie de la muestra para colectar la alícuota. 4. No utilizar este producto más allá de la fecha de caducidad.
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	No aplica.
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.	No reactivo – Reactivo.
Intervalo reportable de los resultados del examen.	No reactivo, Reactivo e Invalido.
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica
Valores de alerta o críticos.	Reactivo
Interpretación clínica del laboratorio.	1 Reactivo: En adición a la banda control, también aparece una banda coloreada distinta en la región de prueba. Una concentración baja se observará una banda un poco más leve. 2 No Reactivo: Solamente aparece una banda en la región de control. 3 Invalido: No aparece ninguna banda de prueba ni de

	control. La muestra debe correrse nuevamente utilizando otro cartucho de prueba nuevo. Un resultado NO REACTIVO no significa Negativo, esto depende del periodo de ventana, por lo cual se deberá realizar la prueba a los tres y seis meses para asegurar el resultado NO REACTIVO referente a la situación de riesgo del paciente. El resultado REACTIVO deberá confirmarse con una prueba de EIA y RIA.
Fuentes potenciales de variabilidad	No aplica.
Referencias	Inserto del Reactivo de HCV.

DIAGRAMA DE FLUJO



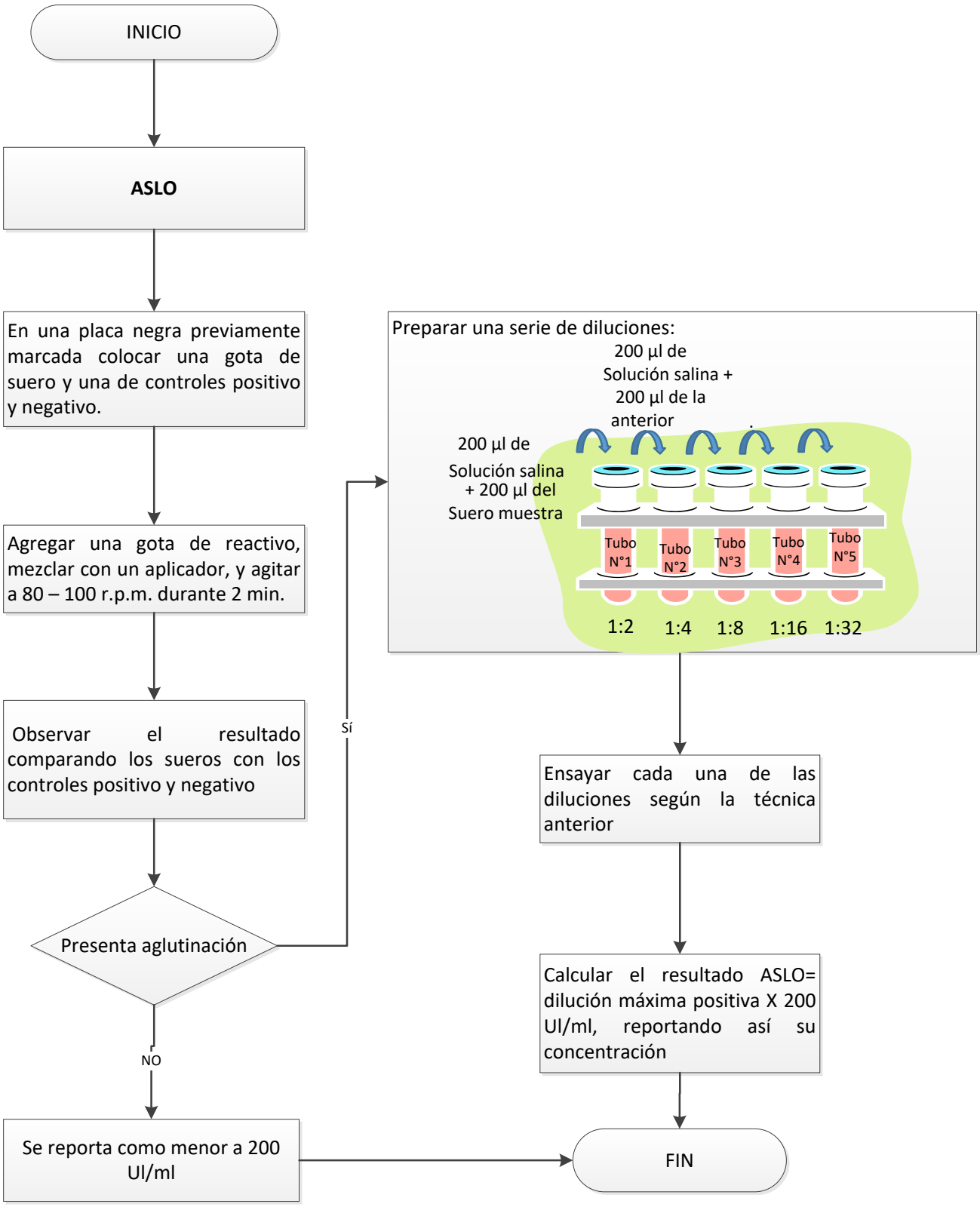
ANTIESTREPTOLISINAS (ASLO)	
Propósito del examen	La estreptolisina O es un exoenzima tóxica inmunogénica producida por estreptococos ß - hemolíticos de los grupos A, C y G. Se encuentra presente en casi todas las personas en títulos bajos debido a que las infecciones estreptocócicas son comunes. La cuantificación de los anticuerpos ASO, y un título alto o creciente indica una infección reciente por un estreptococo beta hemolítico del grupo A. Se utiliza para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades como amigdalitis, escarlatina, fiebre reumática, glomerulonefritis aguda, y otras infecciones estreptocócicas. La fiebre reumática es una enfermedad inflamatoria que afecta al tejido conectivo de diversas zonas del cuerpo humano (piel, corazón, articulaciones, etc.) y la glomerulonefritis aguda es una inflamación del riñón que afecta principalmente a los glomérulos renales.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	Los anticuerpos 15antiestreptolisina O se detectan en el suero por su reacción con la estreptolisina O absorbida sobre el soporte inerte de látex. Los anticuerpos 15antiestreptolisina reaccionan con la estreptolisina produciendo una aglutinación visible macroscópicamente.
Características de desempeño	Sensibilidad analítica: 200 Ul/ml. Especificidad: En una población adulta se obtienen títulos de antiestreptolisina O menores o iguales a 200 Ul/ml en el 95 % de los casos. En una población infantil (Mayores de 2 años) se pueden obtener títulos de hasta 300 Ul/ml.
Tipo de muestra	Suero, Ver manual de toma de muestra, Man-TM-01.
Preparación del paciente	Referencia al manual de toma de muestra, Man-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos	Tubo vacutainer dorado o rojo para la obtención de suero sanguíneo. No se requieren aditivos. Ver manual de toma de

	muestra, Man-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos	✓ Centrifuga, agitador eléctrico y ASO látex: ✓ Reactivo A: Suspensión de partículas de látex poliestireno recubiertas con estreptolisina O. ✓ Control Positivo: Suero humano conteniendo 16antiestreptolisina O en concentración superior a 250 Ul/ml. ✓ Control negativo: suero humano no reactivo con el reactivo A.
Controles ambientales y de seguridad	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia del Manual de seguridad e higiene, MAN-SH-01, Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI, MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración	La sensibilidad del reactivo de ASO-látex está estandarizada frente el patrón internacional de ASO de OMS. La antiestreptolisina en suero es estable 24 horas refrigerada (2-10 °C).
Pasos del procedimiento	✓ Llevar los reactivos y la muestra a temperatura ambiente. Agitar el reactivo A antes de usar, vaciando previamente la pipeta del gotero. *I. Método cualitativo:* 1. En uno de los sectores delimitados de a placa adjunta al equipo colocar: Reactivo A: 1 gota (50 ul) Muestra: 1 gota (50 ul) 2. Mezclar con un palillo desechable (uno para cada muestra) hasta obtener una suspensión uniforme en la superficie delimitada de la placa. Inmediatamente dispara un cronómetro, balancear suavemente la placa y observar macroscópicamente el resultado dentro de 2

	minutos. *II. Método semicuantitiativo* 1. Los sueros positivos pueden titularse efectuando diluciones seriadas en tubos de Kahn. a) Colocar 0.2 ml de solución fisiológica en cada uno de los tubos. b) Agregar 0.2 ml de suero al tubo N°1 y mezclar. c) Transferir 0.2 ml de esta dilución al tubo N°2 y mezclar, continuando así la dilución hasta el último tubo. Las diluciones así obtenidas equivalen a 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, etc. d) Ensayar cada dilución según técnica I.
Procedimientos de control de la calidad	Es conveniente procesar simultáneamente el control Positivo y el control Negativo provistos, empleando una gota del control correspondiente en lugar de la muestra y una gota del Reactivo A según la técnica cualitativa.
Interferencias	1. Los sueros marcadamente lipémicos o contaminados pueden dar resultados falsamente positivos. 2. Tiempos de reacción mayores a 2 minutos pueden producir reacciones falsamente positivas por efecto del secado de los reactivos. 3. Se pueden producir falsos negativos en niños mayores de seis meces y menores de 6 años o en infección reciente. 4. Debe tenerse en cuenta que este tipo de infecciones, un resultado aislado sólo constituye un dato auxiliar, por lo que se recomienda efectuar determinaciones seriadas cada 15-20 días durante 4 ó 6 semanas.
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	Técnica cualitativa*:* Negativo: Suspensión homogénea. Técnica semicuantitativa*:* Título*:* Inversa a la máxima dilución a la que se produce

	aglutinación visible macroscópicamente. El nivel aproximado de antiestreptolisina O en la muestra, puede ser calculada por la fórmula siguiente: ASO (Ul/ml)= Título por sensibilidad de la reacción (200 Ul/ml) Ejemplo: la muestra presenta un título de 1:2. El nivel de ASO es de 2 X 200= 400 Ul/ml
Intervalo de referencia biológica o valores de decisión clínica	Hasta 200 Ul/ml.
Intervalo reportable de los resultados del examen.	Menor a 200 Ul/ml, 200 Ul/ml, 400 Ul/ml, 800 Ul/ml, 1600 Ul/ml, 3200 Ul/ml, 6400 Ul/ml.
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores de alerta o críticos, cuando sea apropiado.	No aplica.
Interpretación del laboratorio.	Las antiestreptolisina son anticuerpos presentes en la sangre en respuesta a una infección aguda por un estreptococo, se encuentran particularmente en la sangre de enfermos afectados por un reuma articular aguda. Infecciones estreptocócicas manifestadas por amigdalitis, escarlatina, sepsis puerperal, erisipela, pueden producir reacción antigénica y posteriormente manifestarse con fiebre reumática o glomerulonefritis.
Fuentes potenciales de variación	No aplica.
Referencias	Inserto del reactivo de ASLO.

DIAGRAMA DE FLUJO



ANTIGENO DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B (HBsAg)

Propósito del examen	Es un ensayo rápido de inmunocromatografía para la determinación cualitativa de Antígeno de Superficie de la Hepatitis B (HBsAg) en sangre total, suero o plasma. Los inmunoensayos "sándwich" de fase sólida para la detección del HBsAg fueron descritos por Wisdom, Wolters y col. y Wei y col. Previamente se reportó la producción, caracterización y aplicación de anticuerpos monoclonales para la determinación de HBsAg.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	El Tests es un inmunoensayo de oro coloidal que detecta el antígeno de superficie de la Hepatitis B en sangre total, suero o plasma. El anti-HBsAg es inmovilizado en la región de la prueba en la membrana de nitrocelulosa. Durante el ensayo la muestra inicial reacciona con el complejo del anticuerpo monoclonal-conjugado de oro coloidal en el área de la muestra. Esta mezcla migra a través de la membrana por acción capilar y reacciona con el anti-HBsAg en la región de la prueba. Si la muestra contiene HBsAg se formará una banda coloreada en esta región. Si no hay antígeno en la muestra no se formará la línea, indicando un resultado "No reactivo". Una banda coloreada siempre se formara en la región de control lo que le indica que el resultado de la prueba se valida.
Características de desempeño	Esta prueba detecta concentración baja como 1 ng/ml (incluyendo ambos tipos y subtipos) se han realizado estudios clínicos para determinar la correlación del test de HBsAg con las pruebas de ELISA y RIA. Tabla 1: Comparación con ELISA (1070 muestras)

TEST HBsAg	ELISA POSITIVO	ELISA NEGATIVO
Positivo	356	8
Negativo	4	702
Tota	360	710

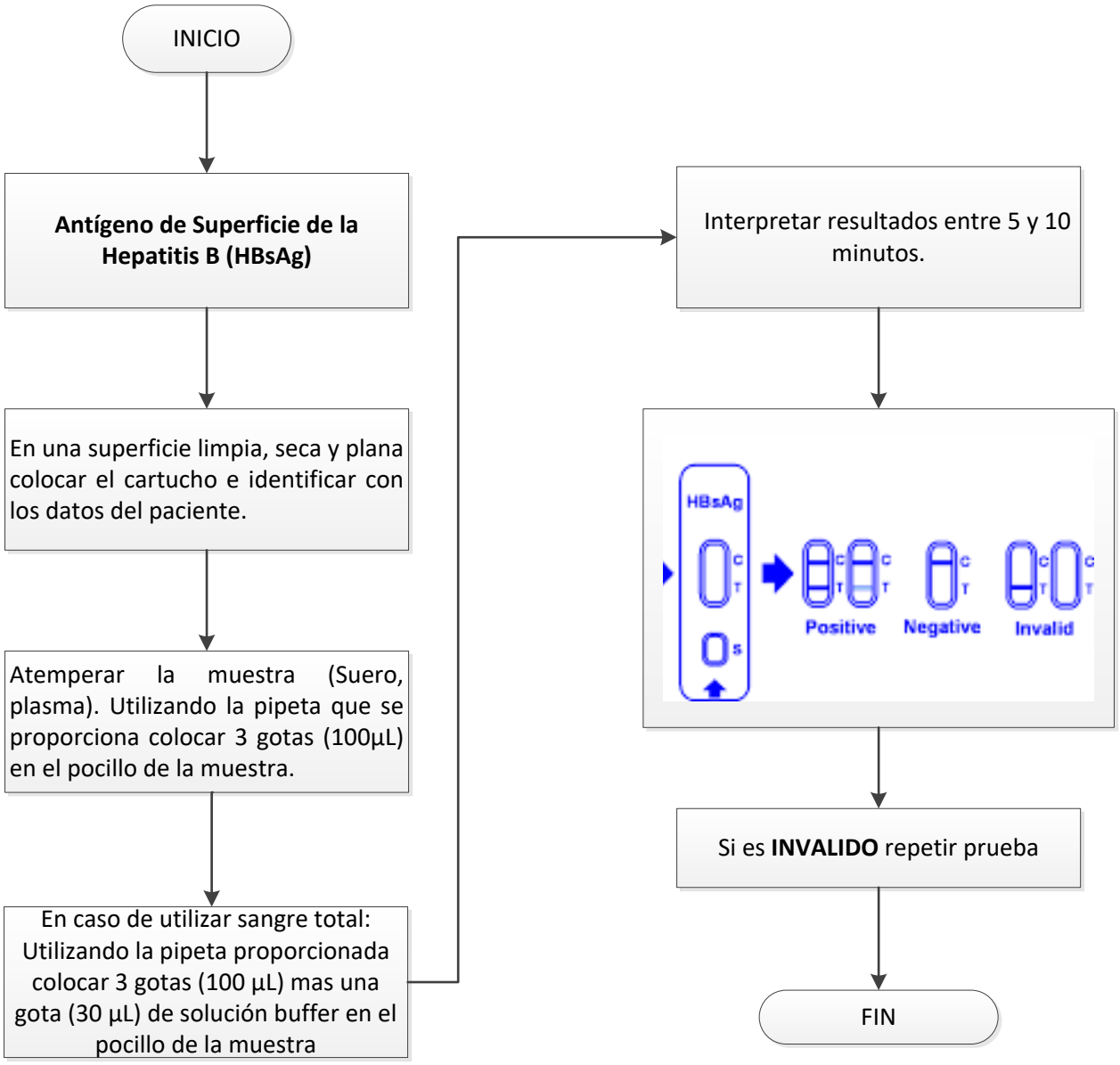
<table>
<tr>
<td></td>
<td>
Sensibilidad: 98.89% (356/360)
Especificidad: 98.87% (702/710)
Valor predictivo de una prueba: 97.80% (356/364)
Tabla 2: Comparación contra RIA (493 muestras)
<table>
<tr><th>Test HBsAg</th><th>RIA POSITIVO</th><th>RIA NEGATIVO</th></tr>
<tr><td>POSITIVO</td><td>138</td><td>2</td></tr>
<tr><td>NEGATIVO</td><td>0</td><td>353</td></tr>
<tr><td>TOTAL</td><td>138</td><td>355</td></tr>
</table>
Sensibilidad: 100% (138/138)
Especificidad: 99.43 % (353/355)
Valor predictivo de una prueba Positiva: 98.57 % (138/140)
</td>
</tr>
<tr>
<td>Tipo de muestra</td>
<td>
Sangre Total:
1 Colectar la muestra de sangre con los procedimientos adecuados de un laboratorio de análisis clínicos.
2 Colectar la muestra de sangre en tubos capilares con heparina. No utilizar muestras hemolizadas.
3 Las muestras de sangre total deben ser analizadas inmediatamente después de su colección.
Suero o plasma:
1 Colectar las muestras de suero o plasma con los procedimientos utilizados en un laboratorio clínico.
2 Remover el suero o plasma del coagulo de los eritrocitos tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis de la muestra.
3 Las muestras hemolizada o extremadamente turbias e ictéricas no son adecuadas para éste ensayo. Las muestras que contienen partículas pueden inducir resultados inconscientes, por lo cual deben ser clarificados previamente antes del ensayo.
4 Las muestras de suero y plasma se deben refrigerar de 2 – 8 ºC hasta por 3 días y/o congelarse a -20ºC por periodos largos. Se pueden agregar a la muestra Azida de sodio al
</td>
</tr>
</table>

	0.1 % como un conservador sin que éste afecte los resultados del ensayo. Ver manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Preparación del paciente	Referencia del Manual de toma de muestra Mat-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Tubo vacutainer rojo o dorado para la obtención de suero sanguíneo. Si la prueba se realiza con plasma, este puede obtenerse empleando heparina, EDTA u oxalato de sodio como anticoagulantes. Ver manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos	Materiales suministrados: • Cartuchos de pruebas, individualmente empacadas con un desecante. • Instructivo de uso. • Pipeta de plástico incluida en cada sobre para dispensar la muestra. • Diluyente. Materiales no suministrados: • Centrifuga. • Tubos para toma de muestra (dorado, rojo o morado). • Controles positivos o negativos (opcionales). Ver manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Controles ambientales y de seguridad.	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia del Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01, Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI, MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración	No aplica.
Pasos del Procedimiento.	No abrir los sobres sellados hasta que se esté listo para realizar la prueba. Para las pruebas en cartucho: 1 Dejar que todos los reactivos y muestras estén a temperatura ambiente.

<table>
<tr><td></td><td>2 Sacar los cartuchos de su empaque y colocarlos en una superficie limpia y seca.
3 Identificar los cartuchos para cada muestra o control.
4 Dispensar tres gotas de la muestra (sangre entera, suero o plasma).
5 Interpretar los resultados de 5 a 10 minutos.
<table><tr><td>HbsAg</td><td>Tiempo para leer resultados</td></tr><tr><td>5 ng/mL</td><td>5 – 10 min</td></tr><tr><td>1 ng/mL</td><td>10 min</td></tr><tr><td>No Reactivo</td><td>10 min</td></tr></table>Lectura de resultados:
No interpretar los resultados antes de los 15 minutos.</td></tr>
<tr><td>Procedimientos de control de calidad.</td><td>Se ha incluido un control del proceso en la prueba de cartucho para indicar que el volumen de la muestra fue suficiente y se agregó correctamente al pocillo, así como determinar que la migración de la muestra fue correcta y que el oro coloidal se disolvió.</td></tr>
<tr><td>Interferencias.</td><td>Sueros que presenten hemólisis o ictéricos pueden ocasionar resultados erróneos.</td></tr>
<tr><td>Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.</td><td>No aplica.</td></tr>
<tr><td>Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.</td><td>No Reactivo</td></tr>
<tr><td>Intervalo reportable de los resultados del examen.</td><td>No Reactivo, Reactivo e Invalido.
Todos los resultados Reactivos se deben confirmar mediante un método alternativo.</td></tr>
<tr><td>Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.</td><td>No aplica</td></tr>
<tr><td>Valores de alerta o críticos.</td><td>Reactivo.</td></tr>
<tr><td>Interpretación clínica por el laboratorio.</td><td>1 Reactivo: En adición a la banda control, también aparece una banda coloreada distinta en la región de prueba. Una concentración baja se observará una banda un poco más leve.
2 No Reactivo: Solamente aparece una banda en la región</td></tr>
</table>

	de control. 3 Invalido: No aparece ninguna banda de prueba ni de control. La muestra debe correrse nuevamente utilizando otro cartucho de prueba nuevo. Un resultado NO REACTIVO no significa Negativo, esto depende del periodo de ventana, por lo cual se deberá realizar la prueba a los tres y seis meses para asegurar el resultado NO REACTIVO referente a la situación de riesgo del paciente. El resultado REACTIVO deberá confirmarse con una prueba de EIA y RIA.
Fuentes potenciales de variación.	No aplica.
Referencia	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO



ANTIGENO PROSTÁTICO (PSA)	
Propósito del examen.	El sistema empleado en este test es un inmunoensayo en fase sólida para la detección cualitativa de un nivel anormal del antígeno prostático total (t-PSA) en suero humano. La sensibilidad de PSA es de 4 ng/ml calculado por dilución seriada en solución tamponada del estándar de PSA_ACT de Scripps. Su utilidad en el diagnóstico radica en el hecho de ser uno de los pocos marcadores tumorales cuya detección por encima de determinada concentración presenta utilidad clínica en el diagnóstico del cáncer de próstata. El segundo cáncer masculino en importancia y el más significativo en edades avanzadas. El test se usa únicamente para obtener un resultado preliminar.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	El antígeno protático es una proteína de unos 34 000 Daltons de peso molecular (en estado libre) y con actividad enzimática tipo serin-proteasa que cumple un papel destacado en los procesos de licuefacción-gelificación del semen. El PSA está presente en el suero, reacciona con partículas de látex coloidal que están conjugadas con anticuerpos monoclonales específicos contra PSA este complejo de partículas coloidales-anticuerpos-PSA migran por un proceso cromatrográfico hacia la zona de reacción. En esta zona, hay anticuerpos contra PSA que reaccionarán con el complejo partículas de látex coloidal-anticuerpos-PSA. Esta reacción origina una línea roja/rosa útil para la interpretación de la prueba.
Características de desempeño.	<u>Sensibilidad analítica:</u> La prueba rápida de PSA cualitativa da un resultado positivo con muestras que contienen mas de 4 ng/ml de PSA, como se muestra a continuación; este límite de detección está evaluado frente a los estándares de PSA Y PSA-ACT de SCRIPPS laboratorios EEUU. No se recomienda la utilización de SHN (suero humano normal), como diluyente de antígeno de PSA como control porque la

sensibilidad obtenida varía dependiendo de la fuente de muestra.

Ng/ml	PSA	PSA-ACT
64	+	+
32	+	+
16	+	+
8	+	+
4	±	±
2	-	-
1	-	-
0	-	-

Cuatro personas, sin entrenamiento previo, realizaron una prueba con diluciones seriadas de PSA para apreciar el límite de detección y se comprobó que no hay variaciones significativas en la asignación del límite de detección.

Una dilución seriada de PSA se analizó con 3 lotes diferentes. Las variaciones entre lotes son muy ligeras y no afectan significativamente al límite de sensibilidad.

Sensibilidad y especificidad diagnóstica:

Los anticuerpos monoclonales utilizados en el test presentan una especificidad única para PSA, sin reacciones cruzadas con otras proteínas del suero humano. Detectan tanto PSA libre como PSA acomplejado con ACT (alpha-1-antiquimiotripsina).

Para determinar las sensibilidades y especificidades diagnósticas del test, se han realizado varios estudios comparando los resultados como los proporcionados por otros test.

El primer estudio se centró en la especificidad. Se testaron 198 muestras de suero fresco – la mayoría negativas – (de un hospital en Zaragoza, España) por duplicado, empleando un test ELISA Seratec

PSA y el test de Spin PSA (tiempo de prueba: 5 minutos). Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

		ELISA	
		positivo	negativo
SPIN-PSA	Positivo	2	3
	negativo	0	193

El análisis de estos resultados permite obtener una especificidad del Simple PSA o Spin PSA > 98%.

En el segundo estudio se testaron 109 muestras de suero fresco (de un centro de análisis de Zaragoza, España). El test de referencia fue el Architect de Abbott y mostró 28 valores iguales o superiores a 4.00 ng/ml (que se considerarían positivos) y 81 menores a 4.00 ng/ml (que se considerarían negativos). Los resultados obtenidos al comparar los test Architect PSA total de Abbott y el test Spin PSA. En función de los niveles de corte fueron:

Abbott Corte	**Spin PSA**			
	Sensibilidad	Especificidad	PPV	NPV
6	13/13=100%	75/96 = 78%	13/34=38%	75/75=100%
4	25/28=89%	72/81=89%	25/34=73%	72/75=96%
2	34/75=45%	34/34=100%	34/34=100%	34/75=45%

Se puede indicar que la concordancia obtenida con el corte a 4 ng/ml fue del 89% de especificidad y 89% de sensibilidad. Además podemos indicar que todas las muestras con valores de PSA superiores a 6 ng/ml (según el test de referencia, Architect) fueron detectadas como positivas por el test Spin PSA, al igual que fueron negativas la práctica total de las que presentaron valores menores a 2 ng/ml.

Precisión Intraensayo – repetibilidad:

Se ensayó por quintuplicado una curva de sensibilidad con un mismo

lote y se obtienen los resultados dentro del error experimental (diferencias menores a una dilución ½).

Reproducibilidad:

Precisión Interdía:

Con 1 lote de producto, se realizan 10 réplicas de la curva de sensibilidad a lo largo de 10 días consecutivos. Solo se aprecia una diferencia de una dilución ½, asumible y tolerable por el ensayo realizado.

Precisión Interlaboratorio:

Seis operadores distintos ensayan estas mismas muestras manteniendo precisiones y concordancias elevadas. Sólo se aprecia una diferencia de una dilución ½, asumible y tolerable por el ensayo realizado.

Precisión Interlote:

Con tres lotes de producto se realiza una curva de sensibilidad en paralelo. El análisis lo realiza una persona y en el mismo día. Sólo se aprecia una diferencia de una dilución ½ asumible y tolerable por el ensayo realizado.

Las diferencias encontradas son asumibles por ser una técnica inmunocromatográfica cualitativa con una variabilidad inherente a la misma.

Efecto HOOK:

Las cantidades de PSA más altas detectadas han sido de 19000ng/ml (con positivo fuerte) y de 125000 ng/ml (con positivo aunque ya con menor intensidad). Comparando con el valor típico de 4 ng/ml para el punto de corte (o sensibilidad), se deduce que se puede detectar sin problemas entre 2500 y 25000 veces más PSA.

Relación con el estándar de la WHO:

Se llevó a cabo una ELISA, en él se obtuvo que la relación entre las valoraciones del estándar interno de Spin PSA (PSA-ACT de Scripps) y los de la WHO (PSA libre o 90:10) es próxima a la unidad (con diferencias menores al 20 %); 4 ng/ml de PSA-ACT de Scripps han

	resultado equivalentes a 3.7 ng/ml de PSA WHO 90:10 (96/670) y a 3.4 ng/ml de PSA WHO libre (96/668).
Tipo de muestra.	1. Sangre entera: ✓ Colecte los especímenes siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio clínico. ✓ El tubo deberá contener anticoagulante, heparina para colectar la sangre entera, no deben usarse muestras hemolizados. ✓ El espécimen de la sangre entera deben ser usados inmediatamente después de su colección. 2. Suero: ✓ Colecte especímenes de suero siguiendo los procedimientos regulares de su laboratorio clínico. ✓ Almacenamiento: un espécimen debe ser refrigerado si no es usado el mismo día de su colección. Los especímenes deben ser congelados si no se usan en tres días a partir de su colección. Evite congelar y descongelar los especímenes más de 2 o 3 veces antes de usarlos. 0.1 % de ácido de sodio puede ser agregado al espécimen como preservativo sin afectar los resultados del ensayo. ✓ Ver. Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Preparación del paciente.	Referencia. Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos.	Ver. Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos	✓ Cartuchos de prueba individuales en sobres con su desecante. ✓ Pipetas de plástico ✓ Inserto ✓ Diluyente ✓ No proporcionados: o Cronómetro. o Centrifugas
Controles ambientales y de	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis

seguridad.	clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	No aplica.
Pasos del procedimiento.	1. Llevar a temperatura ambiente el dispositivo y la muestra. 2. Extraer la casette de prueba del empaque sellado. 3. Identificar cada placa con los datos del paciente. 4. Con la pipeta suministrada dispensar exactamente una gota de muestra de sangre entera o suero en el pozo “S” de la tarjeta de prueba, como se ilustra en la figura. Espere 15 segundos a que la muestra se absorba. 5. Después agregue dos gotas del diluyente en el pozo “D”. 6. Interpretar el resultado de la prueba a entre 4 - 7 minutos. 7. No interpretar resultados después de transcurridos 7 minutos. 8. Deseche todo el material después de finalizar la prueba utilizando procedimientos de manejo de material RPBI. 9. Referencia Inserto del reactivo.
Procedimientos de control de calidad.	El test contiene un control interno, la línea control (línea C). La presencia de esta línea indica que se está usando un volumen correcto de muestra y que los reactivos migran correctamente. Si no aparece la línea C, el test debe considerarse no valido. En tal caso revisar las instrucciones y repetir el ensayo con una nueva placa.
Interferencias	Las sustancias descritas en la tabla y la concentración indicada no dieron lugar a interferencias en el resultado, tanto para muestras negativas como para muestras positivas.

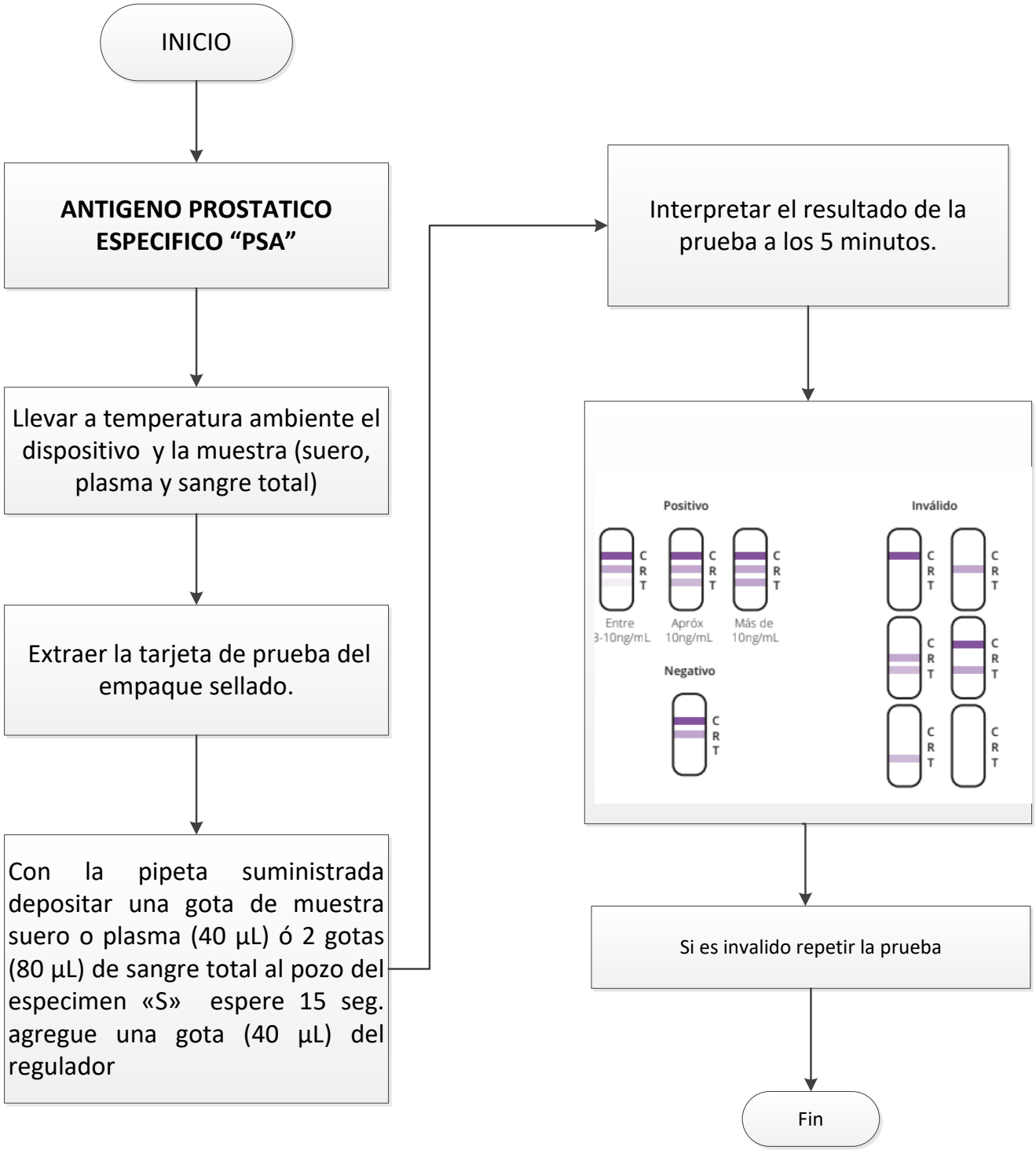
Sustancia	Concentración	Resultado a [PSA]	
		0 ng/ml	8 ng/ml
Acetaminofeno	200 mg/L	-	+
Ácido acetilsaliciico	200 mg/L	-	+
Ampicilina	200 mg/L	-	+
Ácido ascórbico	200 mg/L	-	+

	Atropina	200 mg/L	-	+
	Cafeína	200 mg/L	-	+
	Ácido Gentisico	200 mg/L	-	+
	Fenilpropanolamina	200 mg/L	-	+
	Ácido salicílico	200 mg/L	-	+
	Glucosa	20 mg/ml	-	+
	Urea	40 mg/ml	-	+
	Ácido úrico	100 mg/ml	-	+
	Proteína (BSA)	200 mg/ml	-	+
	Bilirrubina	0.02 mg/ml	-	+
	Estradiol	0.02 mg/ml	-	+
	Pregnadiol	0.02 mg/ml	-	+

Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	No aplica.
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.	Negativo.- Ausencia de PSA en la muestra en un nivel inferior a 1 ng/ml Presuntivo.- Presencia de PSA entre 1ng/ml – 4 ng/ml. Positivo.- Presencia de PSA en un nivel igual o mayor a 4 ng/ml. Referencia del inserto del reactivo.
Intervalo reportable de los resultados del examen.	Positivo. Presuntivo. Negativo.
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores de alerta o críticos.	Positivo
Interpretación clínica del Laboratorio.	El sistema empleado en este test es un inmunoensayo en fase sólida para la detección cualitativa de un nivel anormal del Antígeno Prostático Total en suero humano, la sensibilidad es de 4ng/ml. Su utilidad en el diagnostico radica en el hecho de ser uno de los pocos marcadores tumorales cuya detección por encima de determinada

	concentración, presenta utilidad clínica en el diagnóstico del Cáncer de Próstata, siendo el segundo cáncer masculino en importancia y el más significativo en edades avanzadas. El test se usa únicamente para obtener un resultado preliminar, el cuál debe ser confirmado por exámenes especializados.
Fuentes potenciales de variabilidad.	No aplica.
Referencias	Inserto del reactivo de PSA.

DIAGRAMA DE FLUJO



FACTOR REUMATOIDE (FR)	
Propósito del examen	Los significados reumatoideos son un grupo de anticuerpos dirigidos contra la fracción Fc de la inmunoglobulinas G. Aunque se hallan presentes en gran número de desórdenes reumáticos, tales como el lupus eritematoso sistémico (SLE) y el síndrome de SjÖgren, su principal estudio actual realizado por el "American College of Rheumatolgy" demostró que el 80.4 % de pacientes con artritis reumatoide fueron positivos para el FR. En la articulación enferma se observa un engrosamiento de la membrana sinovial con formación de pliegues y proliferación de linfocitos. Estas células que forman folículos linfoides son los responsables de la síntesis de factores reumatoideo (FR) y otras inmunoglobulinas. Los FR son generalmente de tipo IgM anti-IgG, es decir que reaccionan con las fracciones Fc de las IgG. También se han encontrado FR de tipo IgG, aunque en mucho menor de proporción de casos. Los FR de tipo IgM están presentes en el 85 – 90 % de los adultos con artritis reumatoidea aunque no es específico de la enfermedad puesto que también se han encontrado individuos sanos (en un 3 a 5% de los casos).
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	El FR-Látex es una técnica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de factores reumatoides (FR) en suero humano. Las partículas de látex recubiertas con gamma-globulina humana son aglutinadas por factores reumatoides presentes en la muestra del paciente.
Características de desempeño	Sensibilidad analítica: calibrado frente al standart del CDC, se encuentra una sensibilidad de 1 Ul/ml. En un estudio realizado sobre 176 muestras provenientes de una población hospitalaria se compararon resultados con un método turbidimétrico cuantitativo, obteniéndose una

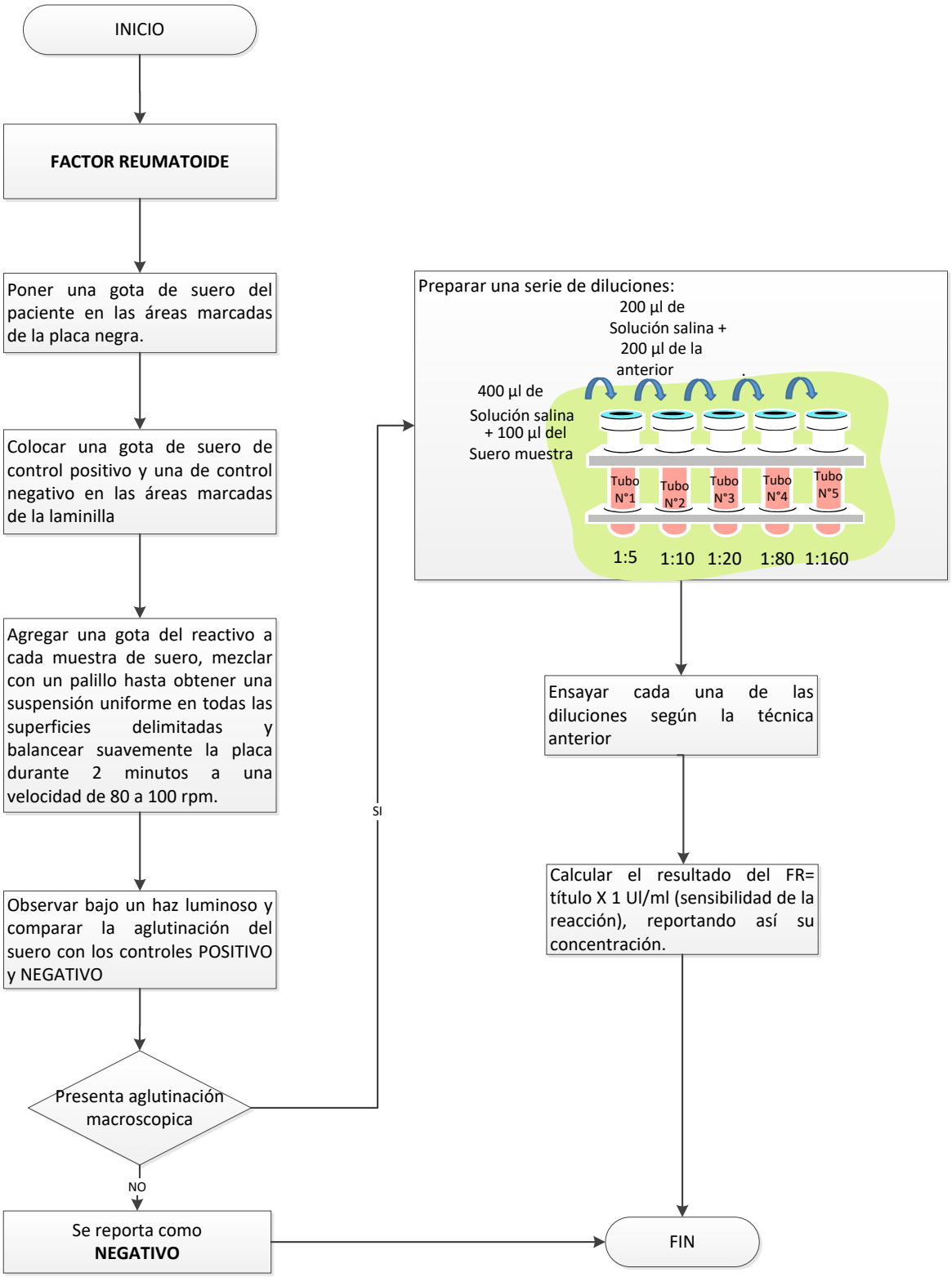
	sensibilidad del 100%. En otro estudio realizado sobre una población de 33 muestras de pacientes con historia clínica de artritis reumatoidea, se obtuvieron 29 muestras reactivas. Se concluye que el 88% de los pacientes con artritis reumatoidea son FR positivos. Especificidad: en un estudio realizado de 75 muestras provenientes de 50 hombres y 26 mujeres con edades entre 18 y 47 años, sin síntomas aparentes de enfermedad reumática, se encontraron 72 muestras no reactivas. Por lo tanto, se concluye que el 4% de esta población sana es FR positiva, siendo una especificidad del 96%.
Tipo de muestra.	**Suero** : *Recolección:* Obtener suero de la manera usual. No deben usarse muestras inactivas por el calor. *Aditivos:* no se requieren. Sustancias interferentes conocidas: hemolisis y pueden ser causa de resultados erróneos. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método. *Estabilidad e instrucciones de almacenamiento*: el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento puede conservarse en el refrigerador (2 – 10 ◦C) durante no más de una semana contada desde su recolección.
Preparación del paciente.	Ver. Manual de toma de muestra MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos.	Tubo vacutainer dorado o rojo para la obtención de suero sanguíneo. Referencia Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos.	Centrifuga, agitador eléctrico 80 – 100 rpm, pipeta de 50 µL Placa de plástico fondo negro. Palillo o varilla de vidrio. Cronómetro. Material volumétrico adecuado, Fuente de luz

	Kit de reactivos para la prueba. Reactivos A. Reactivo A suspensión de partículas de látex poliestireno de 0.20 micrones de Diámetro, que adsorbidas moléculas termo-agregadas de gamma-globulinas o fracción II de Cohn. Control positivo, tapón rojo.- Dilución de suero humano positivo. Equivalente a 2(+). Control negativo, tapón blanco.- Dilución de suero humano negativo.
Controles ambientales y de seguridad.	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	La sensibilidad del reactivo del FR-látex, esta estandarizada frente el patrón internacional de FR del NIBSC 64/002.
Pasos del procedimiento	✓ Esperar a que los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas. *Método cualitativo* 1. En unos de los sectores de la placa de plástico de fondo negro adjunta al equipo, colocar: Muestra 1 gota (50 ul) Reactivo 1 gota (50 ul) Depositar 50 µL de cada uno de los controles positivo y negativo, sobre círculos distintos de la placa. Mezclar con un palillo o varilla de vidrio hasta obtener una suspensión uniforme en toda la superficie delimitada de la placa. Inmediatamente, disparar el cronómetro durante 2 minutos, balancear suavemente la placa en el agitador a 80 –

	120 r.p.m. y observar macroscópicamente el resultado bajo un haz luminoso, el exceso de tiempo puede originar la aparición de falsos positivos. *Técnica semicuantitativa:* Los sueros positivos pueden titularse efectuando diluciones seriadas, en 6 tubos. 1) Colocar 0.2 ml de solución fisiológica al primer tubo y 0.2 ml de solución fisiológica a los 5 restantes. 2) 2) Agregar 0.2 ml de suero en el tubo N◦ 1 y mezclar. Transferir 0.2 ml de esta dilución al tubo N◦ 2 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, 1:32. 3) Ensayar cada dilución según la técnica Cualitativa. Referencia. El inserto.
Procedimientos de control de calidad	Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo de látex, así como el modelo de comparación para la interpretación de resultados distinto al resultado que da el control negativo, se considerará positivo.
Interferencias	Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y lípidos (10 g/L) no interfieren. Otras sustancias pueden interferir.
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	La concentración aproximada de FR en la muestra del paciente se obtiene aplicando la siguiente formula: FR(Ul/ml)= Titulo X sensibilidad de la reacción (8 Ul/ml) Ejemplo: la muestra presenta un título de 1:40. Su concentración es FR es de 40 X 8 = 120 Ul/ml.
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.	Hasta 8 UI/mL.
Intervalo reportable de los resultados del examen.	Negativo, 8 Ul/mL, 16 Ul/mL, 32 Ul/mL, 64 Ul/mL, 128 Ul/mL, hasta 256 Ul/mL.

Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores críticos de alerta o críticos.	Mayor de 30 Ul/mL.
Interpretación clínica del laboratorio	Esta prueba detecta cualitativamente anticuerpos específicos de la artritis a juzgar por la composición química por el factor reumatoide IgM, IgG e IgA. El factor reumatoide está presente en enfermos con artritis reumatoide, lupus eritematoso generalizado, artritis reumatoide juvenil, esclerosis generalizada progresiva, mononucleosis infecciosa y en algunos pacientes con polimiostosis, se consideran patológicos valores superiores a 30 UI/ml. El diagnóstico debe ser emitido por el Médico especialista.
Fuentes potenciales de variación	No aplica.
Referencias	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO



PRUEBA DE EMBARAZO CUALITATIVA (HCG)	
Propósito del examen.	La gonadotropina coriónica humana (HCG) es una hormona glicoproteíca secretada inmediatamente después de la fertilización para el desarrollo de la placenta. En un embarazo normal, la HGC se detecta en orina y suero inmediatamente después de la concepción. Se pueden observar niveles de 5 - 50 nUI/ml en una semana de implantación. Durante la pérdida del primer periodo menstrual, las concentraciones de HCG en orina y suero se encuentran alrededor de las 100 mUI/ml. Los niveles de HCG aumentan rápidamente durante las primeras 10 semanas de embarazo, encontrándose con niveles de 100,000 a 200,000 UI/ml al final del primer trimestre. La presencia inmediata de HCG en orina y suero después de la concepción y su subsiguiente riesgo en concentración durante los crecimientos gestacionales recientes, lo hacen un excelente marcador para la detección temprana de embarazo. Los niveles altos de HCG en sueros y orina en los embarazos tempranos pueden ser asociados con neoplasmas trofoblásticos o no trofoblásticos, tales como la mola hidatidiforme y corio-carcinoma. La posibilidad de tales enfermedades debe tomarse en cuenta antes de que un resultado de HCG positivo se considere como diagnóstico de embarazo. Los niveles bajos de la hormona HCG pueden asociarse con insuficiencia placentaria, abortos espontáneos tratados y embarazos ectópicos. La prueba de rápida de cartucho HCG es una prueba cualitativa rápida utilizada para detectar la presencia de HCG en orina. El uso de reactivos con anticuerpos específicos garantiza una alta sensibilidad y especificidad de la prueba. La prueba tiene una sensibilidad de 25 mUI/ml de HCG en orina, la cual es suficiente para detectar el embarazo en el primer día del periodo perdido. La prueba es

	específica para HCG y no tiene reacción cruzada con niveles fisiológicos de las hormonas glicoproteínas relacionadas (hFSH, hLH y TSH)
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	La prueba de HCG es un inmunoensayo, el cartucho de plástico (o tira) contiene una membrana cubierta con reactivos necesarios para detectar la presencia de HCG y un control propósito para que el usuario pueda validar el resultado de la prueba. La muestra se aplica en la zona correspondiente e inicialmente reacciona con la anti-Beta HCG específica monoclonal y con el anticuerpo del conjugado de oro coloidal. Por acción capilar, la mezcla emigra a través de la membrana reaccionando con un anti-HGC específico de la región de prueba. Si hay HCG en la muestra, el resultado se manifiesta por una banda colorida en la región de prueba. Si no hay HCG en la muestra, el área permanecerá blanca. La muestra fluye a la región de control. Una banda color rosa/púrpura se produce en la zona de control (C), lo cual indica que la prueba se realizó de manera exitosa y el resultado es válido.
Características de desempeño.	<u>Sensibilidad:</u> La prueba de HCG Cart Test detecta concentraciones de 25 mUl/ml de HGC en orina. En un estudio se realizaron un total de 180 pruebas, con tres concentraciones diferentes de HCG. Se prepararon muestras de HCG con las siguientes concentraciones utilizando orina sin HCG; 0 mUl/ml, 25 mUl/ml y 600,000 mUl/ml. Todos los ensayos resultaron negativos con las orinas negativas para HCG y positivas con las muestras de 25 mUl/ml y 600,000 mUl/ml. <u>Efecto zona:</u> En muestras de orina y suero no se encontró efecto zona (prozona) en concentraciones superiores de los 600,000 mUl/ml.

	Precisión: Las muestras de orina normales (n=61) y de mujeres embarazadas (n=66) fueron ensayadas con la prueba y una prueba de laboratorio de referencia. Se encontró una correlación del 100 % entre las dos pruebas. No se obtuvieron resultados falsos positivos o falsos negativos. La precisión de la prueba, fue del 99 % en orina. Suero: Muestras de suero con niveles de HCG no detectables (n=61) y sueros con HCG positivos (n=154) fueron ensayados con la prueba y una prueba de un laboratorio de referencia. Se encontró una correlación del 99.6 % entre las dos pruebas. Se obtuvieron resultados falsos positivos o falsos negativos. La exactitud fue de 99% en suero. Especificidad: La especificidad se determinó entre estudios de reacción cruzada con concentraciones conocidas de la Hormona Luteinizante (LH), Hormona Folículo Estimulantes (HFS) y la Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH). Las muestras contenían 300 mUl/ml de LH, 1000 mUl/ml de TSH. Todas dieron resultados negativos. Estandarización: La sensibilidad de la prueba se estableció utilizando estándares de orina calibrado por el tercer IS 75/537 y el Primer IRP 75/537 respectivamente de la Organización Mundial de la Salud.
	Orina: La muestra debe de ser colectada en un recipiente limpio de vidrio o plástico. Las muestras de orina pueden ser colectadas

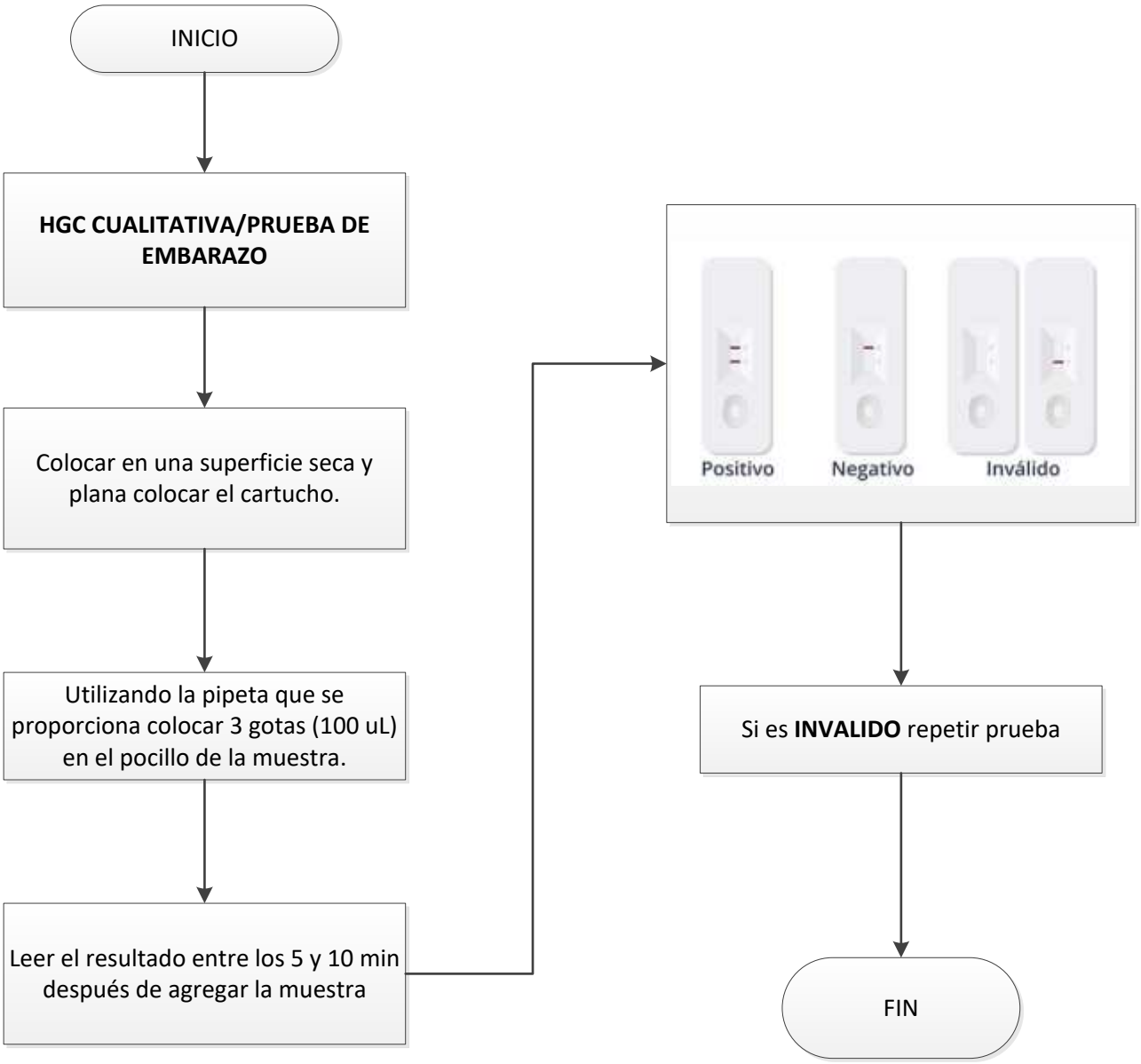
Tipo de muestra	a cualquier hora del día. No es necesario obtener la primera muestra de la mañana, sin embargo las concentraciones más altas de HCG se encuentran en este tipo de muestras. Las muestras pueden ser refrigeradas por 72 horas antes de iniciar la prueba. Una muestra refrigerada se debe llevar a temperatura ambiente y mezclarse antes de usarse. Suero: Se obtiene el suero de una muestra de sangre total. Manteniendo el suero de 2 a 8 °C y realizar la prueba durante las 24 horas. Si la muestra no puede ser ensayada durante las 24 horas, congelar a – 20°C por no más de dos semanas. Las muestras congeladas se deben mezclar vigorosamente después descongelarlas y dejarlas que alcancen la temperatura ambiente antes de realizar la prueba.
Preparación del paciente.	Ver. Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos	Recipiente estéril para la recolección de la primer orina del día. Tubo vacutainer dorado o rojo para la obtención de suero sanguíneo. Ver Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos	Centrifuga y Kit de prueba para la detección de HCG: Kit: 1. Presentaciones: 30, 40, 50 y 100 sobres sellados; cada sobre contiene un cartucho con la prueba, una pipeta de transferencia y un desecante. 2. Instructivo de uso. No proporcionados: Contenedores para colección de muestras y cronómetro o reloj.
Controles ambientales y de seguridad.	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	No aplica.

Pasos del procedimiento.	1. Dejar todos los materiales y muestras a temperatura ambiente. 2. Sacar el cartucho del empaque. 3. Colocar el cartucho en una superficie seca y plana. 4. Utilizar la pipeta que se proporciona, dispensar 100 Ul de muestra en el pocillo de muestra. Empezar a contar el tiempo. 5. Leer los resultados entre 3 y 10 minutos después de agregar la muestra.
Procedimientos de control de calidad.	Se ha incluido un control del proceso en la prueba de cartucho para indicar que el volumen de la muestra fue suficiente y se agregó correctamente al pocillo, así como determinar que la migración de la muestra fue correcta y que el oro coloidal se disolvió.
Interferencias	Sustancias potencialmente interferentes fueron adicionadas a las muestras de orina sin HCG y con 25 mUI/ml. No se encontró interferencia con ninguna de las sustancias en las siguientes concentraciones. Acetaminofén, Ácido acetil salicílico, Ácido ascórbico, Atropina, Cafeína, Ácido gentílico (todos en concentración de 20 mg/dl), Glucosa 2 g/dl y Hemoglobina 1mg/dl. Las sustancias potencialmente interferentes fueron agregadas a las muestras de suero libres de HCG y de 10 mUI/ml de HCG. No se encontró interferencia con ninguna de las sustancias en las siguientes concentraciones: Bilirrubina 10mg/dl, colesterol 790 mg/dl, hemoglobina 250 mg/dl y triglicéridos 1270 mg/dl. 1. Varias condiciones aparte del embarazo, incluyendo la enfermedad trofoblásticos y ciertos neoplasmas no trofoblásticos pueden aumentar los niveles de HCG, estas condiciones deberán ser consideradas con

	evidencias clínicas apropiadas. 2. Una muestra de orina diluida puede no contener suficientes niveles de HCG para dar un resultado positivo. Si el embarazo todavía no está determinado después de 24-48 horas se recomienda la primer orina de la mañana y se vuelve a realizar la prueba. 3. Como todas las pruebas diagnósticas, un diagnóstico clínico definitivo no puede basarse en el resultado de una sola prueba. Puede ser hecho por el médico después de que evaluó los resultados clínicos y de laboratorio.
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	No aplica.
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.	Negativo*:* Una banda rosa/púrpura en la región de control ©. No se encuentra ninguna banda en la región de prueba (T). Positivo*:* Dos bandas de color rosa/púrpura. En adición a la banda control ©, una banda rosa/púrpura también aparece en la región de prueba (T). La intensidad de la banda de prueba puede variar de color rosado hasta un borgoña intenso. Inválido*:* Si no hay bandas de color rosa/púrpura en la región de control y prueba. El resultado de la prueba es inválido. Volver a probar la muestra utilizando un nuevo dispositivo. Referencia inserto.
Intervalo reportable de los resultados del examen.	Negativo. Positivo.
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores de alerta o críticos.	No aplica.
Interpretación clínica del laboratorio.	La gonadotropina coriónica humana es una hormona glicoproteíca secretada inmediatamente después de la fertilización para el desarrollo de la placenta. En un embarazo normal, la HGC se detecta en orina y suero inmediatamente después de la concepción. La prueba de HCG Cart Test es

	cualitativa rápida, utilizada para detectar la presencia de HCG en suero. El diagnóstico de embarazo deberá ser confirmado por ginecología.
Fuentes potenciales de variación.	No aplica.
Referencias	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO



PROTEINA C REACTIVA
(PCR)

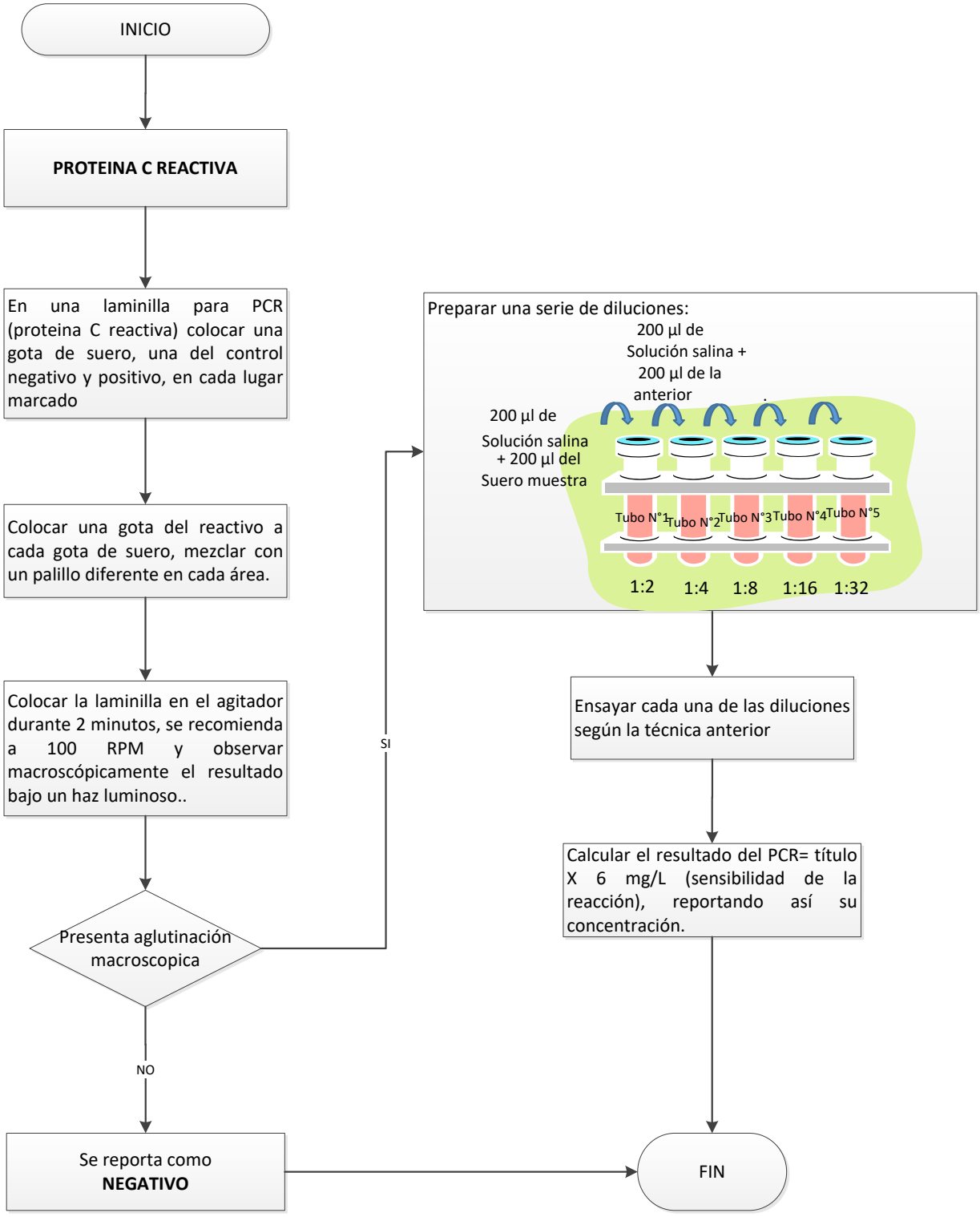
Propósito del examen	La proteína C reactiva es una proteína termolábil que no atraviesa la barrera de la placenta y cuya movilidad electroforética se encuentra entre las zonas del alfa y la beta globulinas. Su nombre se debe a la capacidad para precipitar los polisacáridos C de los pneumococos. En 1930 Tillet y Francis reportaron una reacción de precipitación que se lleva a cabo entre el suero de pacientes que padecían neumonía lobar y un extracto de polisacáridos proveniente de capas de neumococo. El extracto neumocóccico era un carbohidrato denominado C y a la proteína humana selectiva capaz de precipitar se le denomino proteína C reactiva. Independientemente de la neumonía lobar, la proteína C reactiva se ha asociado a una gran variedad de enfermedades infecciosas, a procesos inflamatorios no infecciosos y a ciertos padecimientos malignos. La demostración de niveles elevados de proteína C reactiva es una prueba no específica de inflamación, la cual es virtualmente positiva en todas las infecciones agudas bacterianas, en algunos estados neoplásicos y en varios tipos de destrucción de tejidos como el infarto al miocardio, artritis reumatoidea activa, infecciones virales, tuberculosis, fiebre reumática activa, también se le puede hallar luego de una operación quirúrgica y en gran porcentaje luego de transfusiones sanguíneas. La determinación de la PCR solo indica la intensidad de la enfermedad, así como la respuesta del paciente a un tratamiento dado. La regresión del proceso inflamatorio es acompañada en forma general por decremento en los niveles séricos de proteína C reactiva. La elevación de la velocidad de sedimentación eritrocitaria (VSG) se acompaña de la presencia de PCR, pero

	la elevación de esta ocurre antes que el aumento de la velocidad de sedimentación eritrocitaria, disminuyendo antes que la VSG retorne a niveles normales. La PCR aparece en el suero en la forma de complejo de glicoproteína.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	La prueba de PCR látex es una suspensión de poliestireno micronizado, cuyas partículas homogenizadas en volumen están recubiertas con anticuerpos purificados contra la Proteína C Reactiva, los cuales responden a sueros de pacientes conteniendo Proteína C Reactiva, formando una aglutinación macroscópica clara y evidente. La ausencia de aglutinación indica que en el suero de los pacientes no existen concentraciones representativas de Proteína C Reactiva.
Características de desempeño.	Sensibilidad: PCR-látex directo detecta 6 mg/l de proteína C reactiva.
Tipo de muestra.	Suero. Ver. Manual de toma de muestra MAN-TM-01
Preparación del paciente.	Ver. Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos.	Tubo vacutainer dorado y/o rojo para la obtención de suero sanguíneo. Referencia Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos.	✓ Centrifuga, agitador eléctrico. ✓ Reactivo A. ✓ Control positivo. ✓ Control negativo. ✓ Placa de reacción. ✓ Pipetas desechables.
Controles ambientales y de seguridad.	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	No aplica

Pasos del procedimiento.	*Método cualitativo:* 1. Esperar a que los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Agitar el reactivo A antes de usar. 2. Colocar una gota de suero con una pipeta desechable en una placa de fondo negro y agregar una gota de reactivo. 3. Mezcla con un palillo descartable hasta obtener una suspensión uniforme en toda la superficie del círculo. 4. Inmediatamente dispara el cronómetro, balancear suavemente la placa y observar macroscópicamente el resultado bajo un haz luminoso dentro de 2 minutos. 5. Los sueros positivos pueden titularse en el siguiente método. *Método semi-cuantitativo:* Una vez identificada la muestra positiva: 1. Colocar 8 tubos de kahn. 2. Colocar 0.2ml de solución fisiológica en cada uno de los tubos. 3. Agregar 0.2 ml de suero al tubo No. 1 y mezclar, transferir 0.2 ml de esta dilución al tubo No. 2 y mezclar continuando así las diluciones hasta el último tubo. 4. Las diluciones obtenidas equivalen a 1:2. 1:4, 1:8, 1:16, etc. 5. Ensayar cada dilución según el método cualitativo. 6. Referencia inserto
Procedimientos de control de calidad.	Procesar los controles provistos; positivos y negativo procesándolos de la misma manera que las muestras.
Interferencias.	1. Los sueros lipídicos o contaminados pueden arrojar resultados falsos positivos. 2. Tiempo de reacción mayor de dos minutos pueden producir reacciones falsamente positivas por el efecto de secado de los reactivos.

Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	Prueba semicuantitativa: El título del suero problema, está dado por la última dilución que presenta una aglutinación visible macroscópicamente. La concentración aproximada de PCR en la muestra puede ser calculada por la fórmula siguiente: PCR (mg/l)= Titulo X sensibilidad de la reacción (6mg/l) Ejemplo: La muestra presenta un título de 1:2. Su concentración de PCR es de 2 X 6 = 12 mg/l
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.	Hasta 6 mg/l.
Intervalo reportable de los resultados del examen.	Negativo, 6 mg/dl, 12 mg/l, 24 mg/l, 48 mg/l, 96 mg/l, 192 mg/l, 384 mg/l, 768 mg/l y 1536 mg/l
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores de alerta o críticos.	No aplica.
Interpretación clínica del Laboratorio.	La demostración de niveles elevados de proteína C reactiva es una prueba no específica de inflamación, la cual es virtualmente positiva en todas las infecciones agudas bacterianas, en algunos estados neoplásicos y en varios tipos de destrucción de tejidos como el infarto al miocardio, artritis reumatoidea activa, infecciones virales, tuberculosis, fiebre reumática activa, también se detecta después de una operación quirúrgica y en gran porcentaje después de transfusiones sanguíneas. La determinación de la PCR no solo indica la intensidad de la enfermedad sino también la respuesta del paciente a un tratamiento dado.
Fuentes potenciales de variación.	No aplica.
Referencia.	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO



PRUEBA RAPIDA DE 2019-nCoV IgG/IgM

Propósito del examen.	Una prueba de detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM para SARS-COV en muestras de sangre entera de punción capilar. En enero de 2020, se identificó un nuevo coranovirus (2019-nCoV) como el agente infeccioso que causa un brote de neumonía viral en Wuhan, China, donde los primeros casos tuvieron su inicio de síntomas en diciembre del 2019. Los coronavirus son de ARN con envoltura que se distribuyen ampliamente entre los humanos, otros mamíferos y aves que causan enfermedades respiratorias, entéricas, hepáticas y neurológicas. Se sabe que seis especies de coronavirus causan enfermedades humanas. Cuatro virus – 229E, OC43, NL63, Y HKU1 – son prevalentes y típicamente causan síntomas de resfriado común en individuos inmunocompetentes. Las otras dos cepas – coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-COV) y coronavirus del síndrome respiratorio del medio oriente (MERS-COV) son de origen zoonótico y que se ha relacionado con enfermedades a veces fatales. Los coronavirus zoonótico, lo que significa que se trasmiten entre animales y las personas. Los signos comunes de la infección incluye síntomas respiratorios, tos, falta de aliento y dificultad para respirtar. En casos más graves, la infección puede causar neumonía, síndrome respiratorio agudo severo, insuficiencia renal e incluso la muerte. Las recomendaciones estándar para prevenir la propagación de la infección incluyen lavarse las manos regularmente, cubrirse la boca y la nariz al toser y estornudar, cocinar bien la carne y los huevos. Evite el contacto cercano con cualquier persona que presente síntomas de enfermedades respiratorias, como tos y estornudos.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	El Casete de prueba rápida IgG/IgM 2019-nCoV (Sangre entera de punción digital) es un inmuno ensayo cualitativo basado en membrana para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra 2019-nCoV en la

<table>
<tr>
<td></td>
<td>muestra de sangre entera de punción digital. Esta prueba consta de componentes. Un componente IgG y un componente IgM. En el componente IgG, la IgG antihumana está recubierta en la región de la línea de prueba de IgG. Durante la prueba, la mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar y reacciona con la IgG antihumana en la región de la línea de prueba de IgG, si la muestra contiene anticuerpos IgG contra 2019-NCoV. Como resultado, aparecerá una línea una línea de color en la región de línea de prueba de IgG. De manera similar, la IgM antihumana está recubierta en la región de la línea de prueba de IgM y si la muestra contiene anticuerpos IgM contra 2019-nCoV. El complejo conjugado-muestra reacciona con la IgM antihumana. Como resultado, aparecerá una línea de coloren la región de línea de prueba IgM.
Por lo tanto la muestra contiene anticuerpos IgG 2019-nCov, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba de IgG. Si la muestra contiene anticuerpos IgM 2019-nCoV, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba de IgM. Si la muestra no contiene anticuerpos 2019-nCoV, no aparecerá una línea coloreada en ninguna de las regiones de la línea de prueba, lo que indica un resultado negativo. Para servir como control de procedimiento. Siempre aparecerá una línea de color. Lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de la muestra y se ha producido la absorción de la membrana.</td>
</tr>
<tr>
<td>Características de desempeño.</td>
<td>El casete de la prueba rápida IgG/IgM 2019-nCoV (sangre entera de punción capilar digital) se comparó con una PCR comercial líder, los resultados muestran que el casete de prueba rápida IgG/IgM 2019-nCoV, tiene una alta sensibilidad y especificidad.
IgG Resultados
<table>
<tr><td colspan="2">Método</td><td colspan="2">PCR</td><td rowspan="2">Resultados Totales</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Prueba rápida 2019-nCoV IgG/IgM</td><td>Resultados</td><td>Negativo</td><td>positivo</td></tr>
<tr><td>Positivo</td><td>20</td><td>1</td><td>21</td></tr>
<tr><td>Negativo</td><td>0</td><td>49</td><td>49</td></tr>
<tr><td colspan="2">Resultados Totales</td><td>29</td><td>50</td><td>70</td></tr>
</table>
Sensibilidad Relativa: 85.0% (95% CI*:62.1%-96.8%).</td>
</tr>
</table>

<table>
<tr>
<td></td>
<td>
Especificidad relativa: 98.0% (95%CI*: 86.3%-99.5%).
Exactitud: 98.0% (95%CI*:%-99.96%) *intervalo de confianza
IgM resultado
<table>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Método</td><td colspan="2">PCR</td><td rowspan="2">Resultados Totales</td></tr>
<tr><td>Resultados</td><td>Negativo</td><td>positivo</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Prueba rápida 2019-nCoV IgG/IgM</td><td>Positivo</td><td>17</td><td>2</td><td>19</td></tr>
<tr><td>Negativo</td><td>3</td><td>48</td><td>51</td></tr>
<tr><td colspan="2">Resultados Totales</td><td>20</td><td>50</td><td>70</td></tr>
</table>
Sensibilidad Relativa: 85.0% (95%CI*:62.1%-96.8%).
Especificidad relativa: 96.0% (95%CI*: 86.3%-99.5%).
Exactitud: 92.9% (95%CI*:84.1%-97.6%) *intervalo de confianza
Reactividad Cruzada
El casete de prueba rápida IgG/IgM 2019-nCoV (sangre entera de punción digital), se ha probado para detectar el virus de la influenza A, el virus de la influenza B, el anti-VSR, el anti-adenovirus, el HBsAg, Anti-sífilis, el anti-H. pylori, muestras positivas anti-VIH y anti-HCV.
Los resultados no mostraron reactividad cruzada.
Las 20 muestras positivas se muestrearon personas hospitalizadas que resultaron clínicamente positivas a la infección por SARS-CoV-2. En el momento de la recolección de muestras, estos individuos presentaban síntomas graves o estaban en fase de recuperación.
Precisión (ensayo intra)
La precisión dentro de la cámara se ha determinado usando 3 réplicas de tres muestras: una negativa, una positiva para IgG y una positiva para IgM. Los valores negativos, positivos para IgG y positivos para IgM se identificaron correctamente > 99% de las veces.
</td>
</tr>
<tr><td>Tipo de muestra.</td><td>Sangre entera de punción digital capilar, sangre entera, suero o Plasma de venopunción. Referencia en el manual de toma de muestra, MAN-TM-01.</td></tr>
<tr><td>Preparación del paciente.</td><td>Para la punción digital previamente lavarse las manos y secarlas bien. Ver manual de toma de muestra, MAN-TM-01.</td></tr>
<tr><td>Tipo de contenedor y aditivos.</td><td>Tubo vacutainer morado con k2 EDTA 7.2 mg para sangre entera y plasma, tubo dorado para la obtención de suero sanguíneo. Ver. Manual de toma de muestra, MAN-TM-01.</td></tr>
</table>

Equipo y reactivos requeridos.	Kit de prueba rápida de 2019-nCoV. • Casete de prueba. • Goteros. • Ficha técnica. • Buffer. • Pipeta. • Lanceta. • Curita • Toalla de alcohol. No provistos: • Centrifuga • Contenedor de la muestra. • Cronometro. • Bolsa roja y recipiente punzocortante.
Controles ambientales y de seguridad	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos exclusivo para muestras COVID (lentes de seguridad, careta, cubre bocas kN 95, bata desechable, 2 pares de guantes, cubre Zapato, cinta duraporoe, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	No aplica.
	Muestra de sangre entera de punción digital: 1 Permita que a prueba, la muestra, buffer y/o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de la prueba. 2 Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y úselo dentro de una hora. Se obtendrán mejores resultados que si la prueba **se realiza inmediatamente** después de abrir la bolsa. 3 Coloque el casete en una superficie limpia y nivelada. **4** Lave las manos del paciente con agua y jabón. **5** Desinfecte el dedo anular a un costado de la yema del dedo con

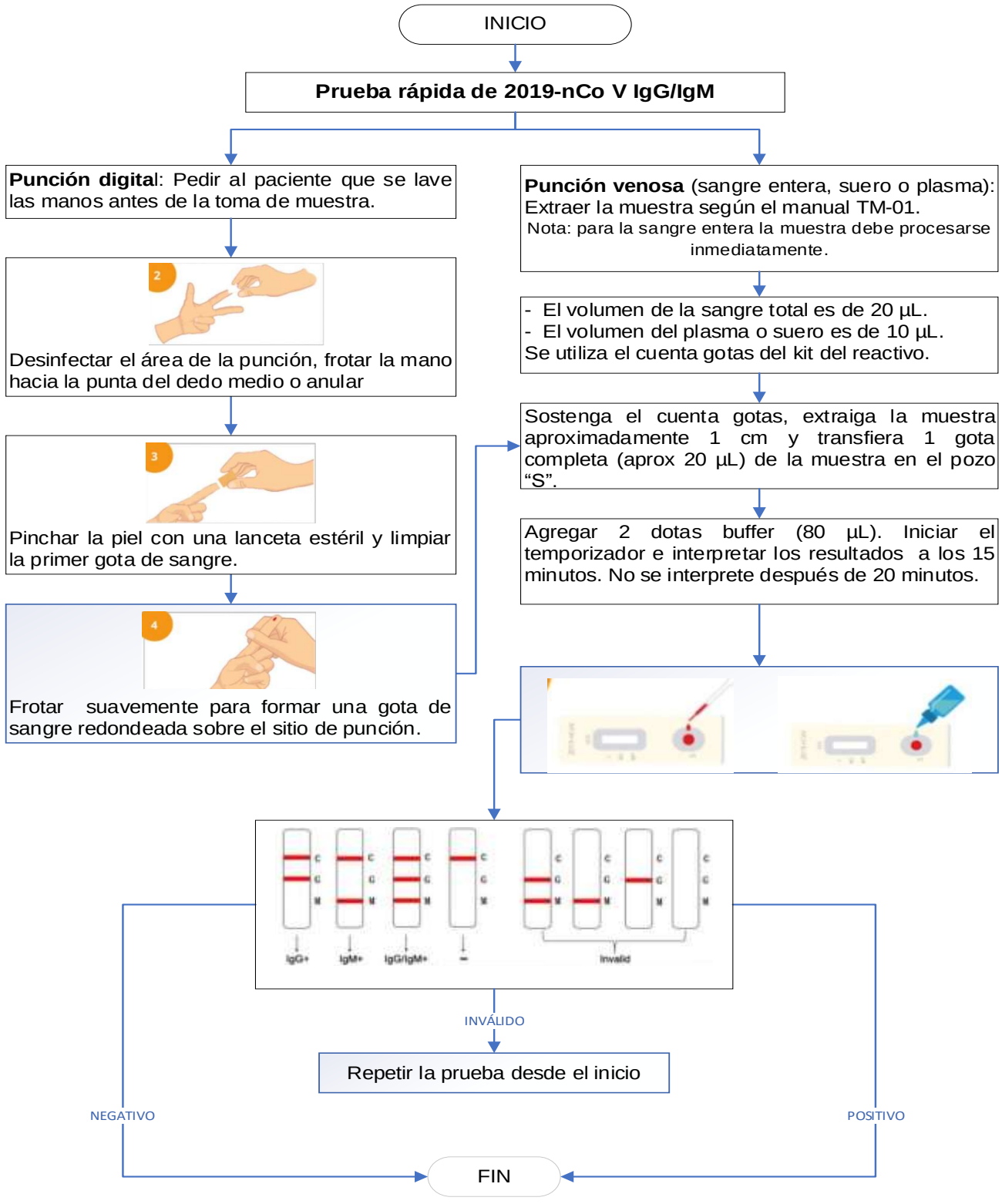
Pasos del procedimiento.	una toallita con alcohol, dejar secar. **6** De masaje a la mano sin tocar el sitio de punción frotando la mano hacia la punta del dedo medio anular. **7** Pincha la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre. **8** Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma, formar una gota de sangre redondeada sobre el sitio de la punción. **9** Presione el bulbo de la pipeta, toque con la punta y empiece a llenar hasta llenar aproximadamente 20 µl. Evite que se formen burbujas de aire. 10 Transferir la gota (20 µl) de sangre entera al pocillo de la muestra (S) del casete de la prueba inmediatamente, luego agregue 2 gotas de buffer (80 µl) y comience el temporizador. 11 Espere que aparezcan las líneas de color y lea resultados a los 10 minutos. No interprete resultados después de 20 minutos. **Muestra de suero o plasma** Para la venopunción ver MAN-TM-01, ver anexo 1 y anexo 2. 1. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y úselo dentro de una hora. Sin embargo se obtienen mejores resultados si la prueba se realiza inmediatamente después de abrir la bolsa. 2. Coloque el casete en una superficie limpia y nivelada. 3. Separe el suero o plasma a través de centrifugación de acuerdo al MAN-TM-01. 4. Usar el cuentagotas (pipeta incluida en el kid), sostenga la pipeta de manera vertical, extraiga la muestra y transfiera una gota (aproximadamente 10 µ). 5. Agregue dos gotas de buffer (aproximadamente 80 µ) e inicie el temporizador. 6. Interpretar resultados a los 10 minutos. No interprete resultados después de 20 min. Separe el suero o el plasma de la sangre cuanto antes para evitar

	una hemólisis. Utilice solo muestras transparentes no hemolizada. Nota: no se sugiere usar el buffer más de 6 meses después de abrir el vial.
Procedimientos de control de la calidad.	Los controles internos de procedimiento se incluyen en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control interno de procedimiento. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. Los estándares de control no se suministran con este kid; sin embargo se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el rendimiento adecuado de la prueba.
Interferencias	Los siguientes compuestos han sido probados usando el casete de prueba rápida IgG/IgM 2019-nCoV (sangre entera de punción digital) y no se observó interferencia. Triglicéridos: 50mg/dL, ácido ascórbico: 20mg/d, hemoglobina 1000mg/dL, Bilirrubina: 60mg/dL, colesterol total: 6 mmol/L
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	No aplica.
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.	Negativo

Intervalo reportable de los resultados del examen.	IgG positivo. IgM positivo. IgG e IgM positivos. IgG/IgM Negativo. Invalido. Nota: La intensidad del color en las regiones de la línea de prueba puede variar según la concentración de anticuerpos 2019-nCoV presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier sombra de color en la región de la línea de prueba debe considerarse positivo.
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores de alerta o críticos.	No aplica.
Interpretación clínica del laboratorio.	1. La presencia de anticuerpos tipo IgG sugiere que el sujeto ha sido expuesto a el virus y ha desarrollado una respuesta inmune, típicamente esto ocurre al menos dos semanas después de la exposición y expresión clínica de la enfermedad. No determina en forma categórica que ya no se tiene riesgo de contraer la enfermedad, pero sugiere que es de menor riesgo que quien no tiene anticuerpos. Tener anticuerpos protectores IgG no excluye la posibilidad de una eventual reinfección. 2. La presencia de anticuerpos IgM indica que el sujeto ha sido expuesto al virus y sugiere que el contacto ha ocurrido en las dos semanas anteriores a la muestra. 3. La presencia de anticuerpos IgG e IgM en forma simultánea, indica que la enfermedad está pasando su forma aguda. IgG Positivo: Aparecen dos líneas de colores. Una línea de color siempre debe aparecer en la región de la línea de control (C) y otra línea debe estar en la región de la línea IgG.

	IgM Positivo: Aparecen dos líneas de colores. Una línea de color siempre debe aparecer en la región de la línea de control (C) y otra línea debe estar en la región de la línea IgM. IgM e IgG Positivo: Aparecen tres líneas de colores. Una línea de color siempre debe de aparecer en la región de la línea de control (C) y dos líneas de prueba deben estar en la región de línea IgG y la región de la línea IgM.
Fuentes potenciales de variación.	No aplica.
Referencia.	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO



PRUEBA RAPIDA DE ANTIGENO SARS-CoV-2

Propósito del examen.	La prueba rápida de antígeno SARS-CoV-2 es un inmunoensayo cromatográfico rápido y confiable para la detección cualitativa de antígenos específicos de SARS-CoV-2 presentes en la nasofaringe humana. Esta prueba es una ayuda para detectar el antígeno del virus SARS-CoV-2 en individuos sospechosos de COVID-19. Este producto está estrictamente diseñado para uso profesional en laboratorios y entornos de puntos de atención. SARS-CoV-2: descripción general de la estructura, transmisión y detección del virus Síndrome respiratorio agudo severo El coronavirus 2 (SARS-CoV-2) es un virus de ARN monocatenario con envoltura de la familia Coronaviridae. Los coronavirus comparten similitudes estructurales y están compuestos por 16 proteínas no estructurales y 4 proteínas estructurales: espiga, envoltura, membrana y nucleocápside. Los coronavirus causan enfermedades con síntomas que van desde los de un resfriado común leve hasta los más graves, como la enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19) causada por el SARS-CoV-2. El SARS-CoV-2 se transmite de persona a persona principalmente a través de gotitas respiratorias, mientras que la transmisión indirecta a través de superficies contaminadas también es posible. El virus accede a las células huésped a través del receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), que es más abundante en los pulmones. El período 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. El espectro de infección sintomática varía desde leve (fiebre, tos, fatiga, pérdida del olfato y del gusto, dificultad para respirar) hasta crítica. Si bien la

mayoría de los casos sintomáticos no son graves, la enfermedad grave se presenta predominantemente en adultos de edad avanzada o con comorbilidades médicas subyacentes y requiere cuidados intensivos. El síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) es una complicación importante en pacientes con enfermedad grave. Los casos críticos se caracterizan por, por ejemplo, insuficiencia respiratoria, shock y / o disfunción multiorgánica, o insuficiencia.

El diagnóstico definitivo de COVID-19 implica la detección directa del ARN del SARS-CoV-2 mediante la tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT). Los ensayos serológicos, que detectan anticuerpos contra el SARS-CoV-2, pueden contribuir a identificar individuos que fueron previamente infectados por el virus y evaluar el grado de exposición de una población. De este modo, podrían ayudar a decidir sobre la aplicación, el cumplimiento o la relajación de las medidas de contención.

Tras la infección con SARS-CoV-2, el huésped genera una respuesta inmune contra el virus, incluida la producción de anticuerpos específicos contra antígenos virales. Tanto la IgM como la IgG se han detectado ya en el día 5 después de la aparición de los síntomas. Se ha observado una seroconversión media en el día 10 -13 para IgM y el día 12 -14 para IgG, mientras que los niveles máximos se han informado en la semana 2 - 3 para IgM, la semana 3 - 6 para IgG y la semana 2 para el anticuerpo total. Mientras que la IgM parece desaparecer alrededor de la semana 6 - 7, se observa una alta seropositividad de IgG en ese momento. Si bien la IgM es típicamente la principal clase de anticuerpos secretada por la sangre en las primeras etapas de una respuesta de anticuerpo primaria, los niveles y el orden cronológico de aparición de anticuerpos IgM e IgG parecen ser muy variables para el SARS-CoV-2. Las IgM e IgG anti-SARS-CoV-2 a menudo aparecen simultáneamente, y se han informado algunos casos en los que la IgG aparece antes que la IgM, lo que limita su utilidad diagnóstica.

Después de la infección o la vacunación, la fuerza de unión de los

	anticuerpos a los antígenos aumenta con el tiempo, un proceso llamado maduración por afinidad. Los anticuerpos de alta afinidad pueden provocar la neutralización mediante el reconocimiento y la unión de epítopos virales específicos. En la infección por SARS-CoV-2, los anticuerpos que se dirigen a las proteínas de la punta y de la nucleocápside, que se correlacionan con una fuerte respuesta neutralizante, se forman desde el día 9 en adelante, lo que sugiere que la seroconversión puede conducir a la protección durante al menos un tiempo limitado.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	El SARS-CoV-2 “prueba rápida de Antígeno” presenta dos líneas prerrecubiertas: Una línea de control “C” y una línea de prueba “T” en la superficie de la membrana de nitrocelulosa. Ni la línea de control ni la línea de prueba son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar las muestras. El anticuerpo monoclonal de ratón anti-SARS-CoV-2 está revestido en la región de la línea de prueba y el anticuerpo monoclonal de ratón anti-pollo IgY está revestido en la región de la línea de control. El anticuerpo monoclonal de ratón anti SARS-CoV-2 conjugado con partículas de color se utiliza como detector para el dispositivo de antígeno específico de SARS-CoV-2. Durante la prueba, el antígeno SARS-CoV-2 de la muestra interactúa con el anticuerpo monoclonal anti-SARS-CoV-2 conjugado con partículas de color para formar un complejo antígeno-anticuerpo con partículas de color. Este complejo migra en la membrana a través de la acción capilar hasta la línea de test, donde es capturado por el anticuerpo monoclonal de ratón anti-SARS-CoV-2. La línea de prueba de color se vuelve visible en la ventana de resultados cuando se detecta la presencia de antígenos específicos de SARS-CoV-2 en la muestra. La intensidad de la línea de test de color depende de la cantidad de antígeno específico de SARS-CoV-2 presente en la muestra. Nota: Incluso si la línea de la prueba es muy débil o no es uniforme, el resultado del test debería interpretarse como un resultado positivo. Si no se detectan antígenos específicos de SARS-CoV-2 en la muestra, la línea de test no tendrá color. La línea de control se utiliza como

<table>
<tr><td></td><td>control del procedimiento y siempre aparece si el resultado de test es válido. Si no aparece línea de control, el resultado del test debería considerarse no válido.</td></tr>
<tr><td>Características de desempeño.</td><td>
Datos específicos del funcionamiento del test
El rendimiento clínico de la prueba rápida de antígenos SARS-CoV-2 se evaluó utilizando 976 muestras en dos estudios prospectivos en dos centros clínicos en Tailandia y Suiza. Las cohortes de pacientes en ambos países incluyeron pacientes con sospecha de Covid-19 de acuerdo con los criterios de pruebas locales. Específicas del sitio.
Sensibilidad y especificidad
Las siguientes tablas correlacionan el rendimiento de la prueba rápida de antígeno SARS-CoV-2 en todas las muestras positivas para RT-PCR a los respectivos valores Ct del comparador del PCR. La sensibilidad relativa global resultante en ambas cohortes fue 95% (valor Ct ≤30; 95% CI: 91.8 % - 97.8%). La especificidad relativa global fue 99.2% (91% CI:98.2%-97.7%). En el cohorte suizo, para pacientes de los que se conocía.
Para los pacientes para quienes los días después del inicio de los síntomas eran conocidos, y eran 0 – 5 días, la sensibilidad fue 91.1% (95% CI: 85.7% - 94.9 %).
Resumen de características y rendimientos de la muestra:
<table>
<tr><td></td><td>Tailandia</td><td>Suiza</td><td>Combinado</td></tr>
<tr><td>N</td><td>447</td><td>529</td><td>976</td></tr>
<tr><td>Tipo de muestra</td><td>Combinada NF/OF</td><td>NF</td><td>N/A</td></tr>
<tr><td>PCR positivo, N(%)</td><td>58 (13.0 %)</td><td>191 (36.1 %)</td><td>249 (25.5 %)</td></tr>
<tr><td>PCR negativo, N(%)</td><td>389 (87.0 %)</td><td>338 (63.9 %)</td><td>727 (74.5 %)</td></tr>
<tr><td>Acuerdo positivo %(95 % CI), N</td><td>98.3 % (CI, 90.8 % - 100 %), 58</td><td>89.0 % (CI, 83.7 % - 93.1 %), 191</td><td>91.2 % (CI, 86.9 % - 94.4%). 249</td></tr>
<tr><td>Ct ≤ 24,</td><td>100 % (CI,</td><td>97.0 % (CI,</td><td>97.6 % (CI,</td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

Acuerdo positivo, % (95% CI), N	88.8 % - 100 %), 31	92.5 % - 99.2 %), 133	93.9 % - 99.3 %), 164
Ct ≤ 27, acuerdo positivo, % (95% CI), N	100 % (CI, 91.2 % - 100 %), 40	95.6 % (CI, 91.1 % - 98.2 %), 159	96.5 % (CI, 92.9 % - 98.6%) 199
Ct ≤ 30, Acuerdo positivo, % (95% CI), N	100 % (CI, 92.3 % - 100 %), 46	94.3 % (CI, 89.7 % - 97.2 %), 174	95.5 % (CI, 91.8 % - 97.8 %), 220
Ct ≤ 33, Acuerdo positivo, % (95% CI), N	98.2 % (CI, 90.3 % - 100 %), 55	91.8 % (CI, 86.8 % - 95.3 %), 183	93.3 % (CI, 89.3 % - 96.1 %), 238
Acuerdo negativo, % (95% CI), N	98.7 % (CI, 97.0 % - 99.6 %), 389	99.7 % (CI, 98.4 % - 100 %), 338	99.2 % (CI, 98.2 % - 99.7 %), 727

b) Datos de los dos estudios combinados y analizados.

Más evaluaciones clínicas en diferentes entornos realizadas por investigadores independientes pueden ser encontrados en www.diagnostics.roche.com.

SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test.

El rendimiento de la prueba fue mejor en muestras con valores de Ct más bajos (indicando una carga viral más alta) que tienen más probabilidades de estar correlacionados con la positividad del cultivo del virus que las muestras con valores de CT más altos.

La muestra positiva de SARS-CoV-2 se preparó añadiendo SARS-CoV-2 (2019-nCOV) NCCP 43326/2020/Cepa Coreana a SARS-CoV-2 de un hisopo nasofaríngeo negativo confirmado con

PCR. El LoD es determinado como 3.12 x 10^{22} $TCID_{52}$/mL para una hisopado nasofaríngeo directo, para un hisopado nasofaríngeo almacenado en MTVf) por análisis serializado simulado de una muestra positiva diluida.

Desempeño analítico

1. Límite de detección (LoD):

Cepa de 2019-nCoV analizada: NCCP 43326/2020/Korea										
Título de base de 2019-nCoV: 1 X 106.2 TCID50/mL										
Dilución	1/10	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600
Concentración c)	1 X 105.2	1X 104.2	5 X 103.2	2.5X 103.2	1.25X 103.2	6.25 X 102.2	3.12 X 102.2	1.56 X 102.2	7.8X 101.2	3.9X 101.2
Tasa de identificación (5)c)	100 % (5/5)	100 % (5/5)	100 % (5/5)	100 % (5/5)	100 % (5/5) 5	100 % (5/5)	100 % (5/5)	0 % (0/5)	0 % (0/5)	0 % (0/5)
Tasa de identificación (20)d)	NA	NA	NA	NA	NA	100 % (20/20)	100 % (20/20)	0 % (0/20)	NA	NA
Concentración más baja con positividad uniforme por parámetro: 3.12 X 102.2 TCID50/mL										
Límite de Detección (LoD) por cepa de virus: 3.12 X 102.2 TCID50/mL										

b) En dilución analizada tras concentración TCID 50/mL

c) De 5 réplicas

d) De 20 réplicas próximas al punto de corte

	Nota: El coronavirus HKU1 humano y Pneumocystis jirovecii (PJP) no han sido probados. Puede haber una reacción cruzada con el coronavirus HKU1 humano y Pneumocystis jirovecii (PJP), aunque el % de identidad de la secuencia de la proteína de la nucleocápside del HKU1 y PJP con la secuencia de la proteína de la nucleocápside del SARS-CoV-2 fue 35.22% y 16.2% el cual se considera como baja homologación.
Tipo de muestra.	Nasofaríngea
Preparación del paciente.	Para la toma nasofaríngea no es necesario sacudir la nariz previa a la muestra. El paciente debe presentarse durante la fase aguda de COVID – 19, mientras que el virus todavía está presente en grandes cantidades en el tracto respiratorio. MAN-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos.	Kit completo de la prueba rápida de antígeno SARS-CoV-2. Ver. Manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos.	Kit de prueba rápida de SARS-CoV-2 **Material suministrado** ▪ Tira reactiva (individual en bolsa de aluminio con desecante) ▪ Tubo de tampón de extracción ▪ Capuchón de aguja dispensadora ▪ Hisopo estéril ▪ Película (puede adjuntarse a la tira reactiva para realizar pruebas al aire libre) ▪ Instrucciones de uso ▪ Guía de referencia rápida **Material requerido (no suministrado)** ▪ Cronómetro ▪ Micropipeta (para preparar la muestra MTV) ▪ Equipo de protección personal según las recomendaciones o requisitos locales ▪ Contenedor de riesgo biológico
Controles ambientales y de seguridad	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos exclusivo para muestras COVID (lentes de seguridad, careta,

	cubre bocas kN 95, bata desechable, 2 pares de guantes, cubre Zapato, cinta duraporoe, zapato cerrado y suela antiderrapante) tener todo el material listo para la toma de muestra, descartar en los residuos de los recipientes de RPBI. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	No aplica.
Pasos del procedimiento.	**Preparación del test** Previo a iniciar el procedimiento, los dispositivos de prueba y los reactivos deben equilibrarse para funcionar temperatura (15-30 ° C / 59-86 ° F). 1. Compruebe la fecha de caducidad en la parte posterior de la bolsa de aluminio. No utilice el test si se ha superado la fecha de caducidad. 2. Abra la bolsa de aluminio y extraiga la tira reactiva y el desecante. Utilice el test. Inmediatamente después de abrir la bolsa. 3. Compruebe que la tira reactiva no presenta daños y que el indicador de estado del desecante es válido (amarillo). 4. Realice el control de calidad según las Instrucciones de uso del material del control de calidad. **Obtención de una muestra (exudado nasofaríngeo)** 1. Para obtener una muestra de hisopo nasofaríngeo, inserte un hisopo estéril en la fosa nasal del paciente, alcanzando la superficie de la nasofaringe posterior 2. Con una rotación suave, empuje el hisopo hasta encontrar resistencia al nivel del cornete. 3. Gire el hisopo de 3 a 4 veces contra la superficie nasofaríngea. 4. Retire el hisopo de la fosa nasal con cuidado. 5. Inserte el hisopo en el tubo de tampón de extracción proporcionado.

	Mientras aprieta el tubo del tampón, revuelva el hisopo más de 5 veces. 6. Retire el hisopo mientras aprieta los lados del tubo para extraer el líquido del hisopo. 7. Presione la tapa de la boquilla firmemente sobre el tubo. La muestra debe analizarse lo antes posible después de la recolección. 8. Las muestras se pueden almacenar a temperatura ambiente hasta por 1 hora o de 2-8 ° C / 36-46 ° F por hasta 4 horas antes de la prueba. 9. No utilice la muestra si se ha congelado y descongelado más de una vez o si la muestra en VTM se ha congelado y descongelado más de 3 veces. **Procedimiento de prueba** 1. Coloque el dispositivo de prueba en una superficie plana y aplique 3 gotas de muestra extraída en un ángulo de 90 ° para el pocillo de la muestra del dispositivo de prueba. 2. Lea el resultado de la prueba a los 15 - 30 minutos. Nota: No lea los resultados de la prueba después de 30 minutos. Puede dar resultados falsos.
Procedimientos de control de la calidad.	Los controles internos de procedimiento se incluyen en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control interno de procedimiento. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. Los estándares de control no se suministran con este kid; sin embargo se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

Interferencias

Reactividad cruzada e interferencia microbiana:

No existe reacción cruzada e interferencia con posibles sustancias de reacción cruzada excepto con el coronavirus SARS.

Sustancia potencial de reacción cruzada	Cepa	Concentración de sustancia potencialmente de reacción cruzada
Coronavirus SARS	Urbani	3.5 µg/mL
Coronavirus MERS	Florida/USA-2_Saudi Arabia_2014	4 X 104 TCID50/mL
Coronavirus Humano	229E	1 X 104.5 TCID50/mL
	OC43	1 X 105 TCID50/mL
	NL63	1 X 104 TCID50/mL
Influenza A	H1N1 Denver	3 X 105 TCID50/mL
	H1N1 WS/33	3 X 105 TCID50/mL
	H1N1 Pdm-09	3 X 105 TCID50/mL
	H1N1 New Caledonia	3 X 105 TCID50/mL
	H1N1 New Jersey	3 X 105 TCID50/mL
Influenza B	Nevada/03/2011	3 X 105 TCID50/mL
	B/Lee/40	2.5 X 104 TCID50/mL
	B/Taiwan/2/62	3 X 105 TCID50/mL
Virus sincitial respiratorio	Tipo A	3 X 105 TCID50/mL
	Tipo B	3 X 105 TCID50/mL
Virus lisado de inmunodeficiencia humana	BaL	10 µg/mL
Haemophilus influenzae	NCTC 4560	5 X 104 células /mL
Mycoplasma	Mutante 22	5 X 104 células /mL

	pneumoniae	FH cepa de agente Eaton [NCTC 10119]	5 X 104 células /mL
		M129-B7	5 X 104 células /mL
	Streptococcus pneumonia	4752-98 [Maryland (D1)6B-17]	5 X 104 células /mL
		178 [Poland 23F-16]	5 X 104 células /mL
		262 [CIP 104340]	5 X 104 células /mL
		Slovakia 14-10 [29055]	5 X 104 células /mL
	Streptoccus pyrogens	Cepa de scritur T1 [NCIB 1184: SF 130]	5 X 104 células /mL
	Legionella pneumophia	Bloomington-2	5 X 104 células /mL
		Los Angeles-1	5 X 104 células /mL
		82A3105	5 X 104 células /mL
	Candida albicans	3147	5 X 104 células /mL
	Bordetella pertussis	NCCP 13671	5 X 104 células /mL
	Moraxella catarrhalis	N9	5 X 104 células /mL
	Pseudomonas aeruginosa	R. Hugh 813	5 X 104 células /mL
	Staphylococcus epidermidis	FDA cepa PCI 1200	5 X 104 células /mL
	Streptococcus salivarius	S21B [IFO 13956]	5 X 104 células /mL
	Chlamydia pneumoniae	TWAR cepa TW-183	1 X 105 células /mL
	Lavado nasal humano agrupado	N/A	N/A

Nota: El coronavirus HKU1 humano y Pneumocystis jirovecii (PJP) no han sido probados. Puede haber una reacción cruzada con el coronavirus HKU1 humano y Pneumocystis jirovecii (PJP), aunque el % de identidad de la secuencia de la proteína de la nucleocápside del HKU1 y PJP con la secuencia de la proteína de la nucleocápside del SARS-CoV-2 fue 35.22% y 16.2% el cual se considera como baja homologación.

Estudios de sustancias de interferencia endógena / exógena:

No se encontró ninguna interferencia en el resultado del test con las sustancias potencialmente interferentes indicadas a continuación. a)

Factor exógeno	**Sustancias interferentes**	**Concentración de la prueba**
Medicamentos relevantes	Zanamivir (Influenza)	5 mg/mL
	Oseltamivir (Influenza)	10 mg/mL
	Artemether-lumefantrine (Malaria)	50 µM
	Hiclato de doxiciclina (Malaria)	70 µM
	Quinina (Malaria)	150 µM
	Lamivudina(Medicación retroviral)	1 mg/mL
	Ribavirin (HCV)	1 mg/mL
	Daclatasvir (HCV)	1 mg/mL
Medicación anti-inflamatoria	Acetaminofen	200 µM
	Ácido Acetilsalicílico	3.7 mM
	Ibuprofeno	2.5 mM
Antibióticos	Mupirocina	10 mg/mL
	Tobramicina	5 µg/mL
	Erythromicina (antibiotico)	81.6 µM
	Ciprofloxacino (antibiotico)	31 µM

Factor exógeno

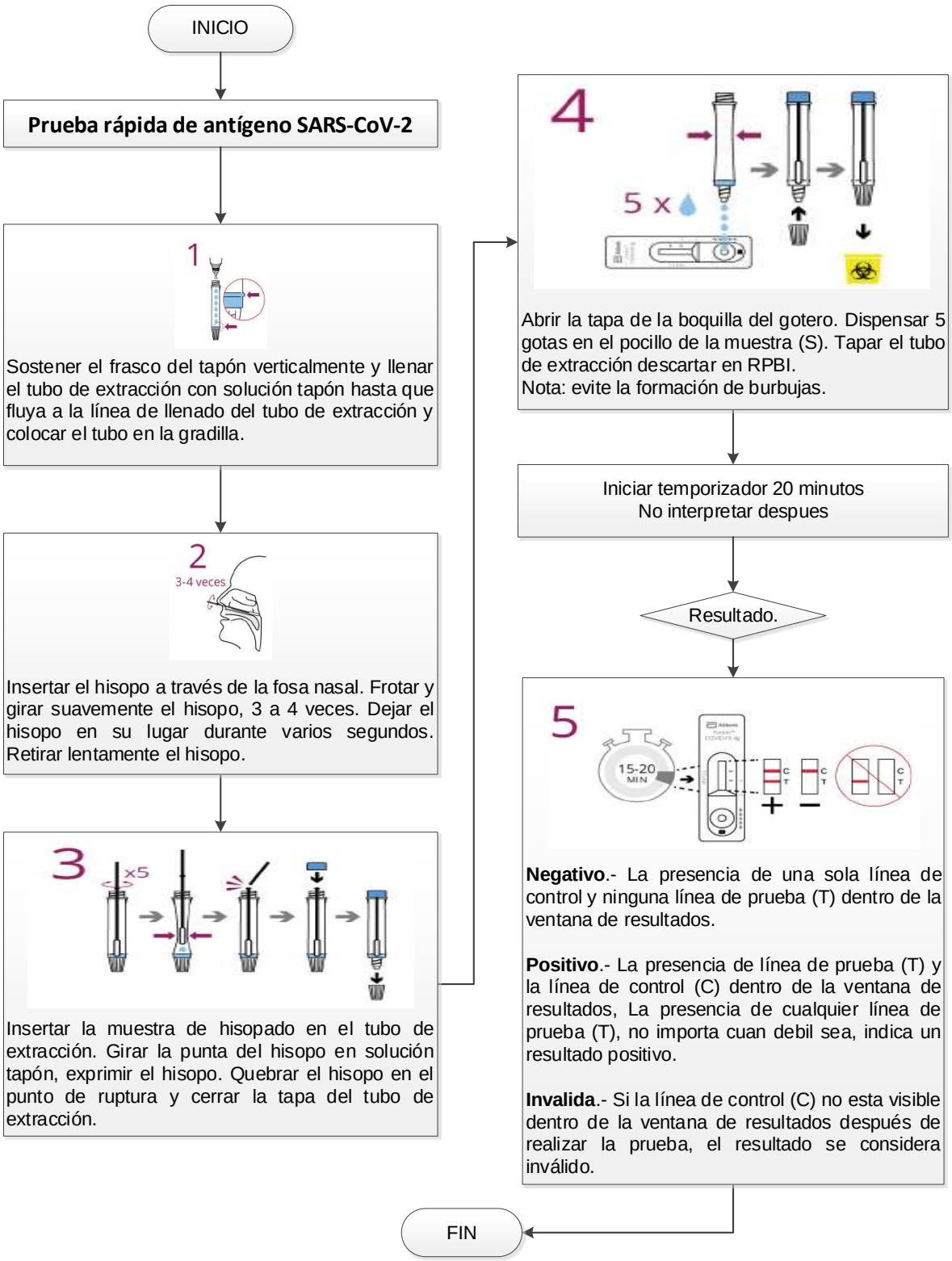
Factor exógeno	Sustancias interferentes	Concentración de la prueba
Aerosoles o gotas nasales	Neo-sinefrina (Fenilefrina)	10 % (v/v)
	Spray nasal Afrin (Oximetazolina)	10 % (v/v)
	Spray nasal salino	10 % (v/v)
	Rinocorte (Budesonida – corticoesteroides nasales)	10 % (v/v)
Medicina homeopática para aliviar las alergias	Gel nasal homeopático para el alivio de la alergia Zicam	5 % (v/v)
	Cromoglicato de sodio	20 mg/mL
	Clorhidrato de olopatadina	10 mg/mL
Anestésico oral	Anbesol (Benzocaina 20%)	5 % (v/v)
Pastillas para la garganta	Strepsils (flurbiprofeno 8,75 mg)	5 % (p/v, 50 mg/mL)
	Caramelo de garganta (menta)	5 % (p/v, 50 mg/mL)
Otros	Mucina: glándula submaxilar bovina, tipo I-S	100 µg/mL
	Biotina	100 µg/mL

<table>
<tr><td></td><td>b) factor endógeno

<table>
<tr><th>Factor endógeno</th><th>Sustancias interferentes</th><th>Valor de la prueba</th></tr>
<tr><td rowspan="6">Enfermedad autoinmune</td><td>Anticuerpo humano anti-ratón</td><td>802 ng/mL</td></tr>
<tr><td></td><td>375 ng/mL</td></tr>
<tr><td></td><td>317 ng/mL</td></tr>
<tr><td></td><td>69 ng/mL</td></tr>
<tr><td></td><td>727.5 ng/mL</td></tr>
<tr><td>Factor Reumatoide</td><td>3480 IU/mL</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Proteína sérica</td><td>Sangre total (humana), anticoagulada con EDTA</td><td>10 % (p/p)</td></tr>
<tr><td>Albumina de suero humano</td><td>60 mg/mL</td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.</td><td>No aplica.</td></tr>
<tr><td>Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.</td><td>Negativo</td></tr>
<tr><td>Intervalo reportable de los resultados del examen.</td><td>▪ Una línea de color aparece en la sección superior de la ventana de resultados para mostrar que la prueba está funcionando correctamente. Esta línea es la línea de control (C). Incluso si la línea de control es débil o no uniforme, la prueba debe considerarse que se realiza correctamente. Si no hay línea de control visible, el resultado de la prueba debe considerarse inválido.
▪ En caso de un resultado positivo, una línea de color aparece en la</td></tr>
</table>

	sección inferior de la ventana de resultados. Esta línea es la línea de prueba del antígeno (T) del SARS-CoV-2. Incluso si la línea de prueba es muy débil o no uniforme, el resultado de la prueba debe interpretarse como un resultado positivo.
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores de alerta o críticos.	Positivo
Interpretación clínica del laboratorio.	• Una línea de color aparece en la sección superior de la ventana de resultados para mostrar que la prueba esta funcionando correctamente. Esta línea es la línea de control (C). Incluso si la línea de control es débil o no uniforme, la prueba debe considerarse que se realiza correctamente. Si no hay línea de control visible, el resultado de la prueba debe considerarse inválido. • En caso de un resultado positivo, una línea de color aparece en la sección inferior de la ventana de resultados. Esta línea de prueba del antígeno (T) del SARS-CoV-2. Incluso si la línea de prueba es muy débil o no uniforme, el resultado de la prueba debe interpretarse como un resultado positivo. Los resultados negativos del test no tienen como objetivo confirmar o descartar la infección por otros coronavirus.
Fuentes potenciales de variación.	No aplica.
Referencia.	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO



REACCIONES FEBRILES (RF)

Propósito del examen.	Los antígenos febriles se usan para detectar anticuerpos en el suero del paciente contra *Salmonella*, *Brucella* y *Rickettsia* (reacción cruzada con Proteus OX-19). *Salmonella:* La reacción de Widal es un método serológico usado comúnmente en el diagnóstico de la fiebre tifoidea, entérica y ondulante; la reacción mide el título del suero contra una suspensión de microorganismos conocidos de bacilos esporulados aerobios Gram negativos. Hay 3 especies clínicamente importantes: *S. enteritidis*, *S.cholerasius* y *S. typhi*. Más de 1,800 tipos serológicos de *S. enteritidis* han sido descritos. *S.cholerasius* y *S. typhi* tienen solo un tipo serológico cada una. Tres síndromes principales resultan de la infección con *Salmonella:* • *Gastroenteritis* • *Fiebre tifoidea* • *Septicemia* *Brucella:* En esta prueba se detectan los anticuerpos contra *Brucella*, casi todas las infecciones humanas se deben a: *B. abortus*, *B. suis* ó *B. melitensis*. La brucelosis es una enfermedad aguda o crónica que se manifiesta principalmente por escalofríos, fiebre y debilidad, ocasionalmente se presentan episodios febriles ondulatorios que han dado lugar al nombre de “fiebre ondulante” de la enfermedad. *Rickettsias:* Las especies de *Rickettsia* que causan tifo tienen componentes antigénicos a *Proteus* *(OX-19, OX-2, OX-K)*; esta relación se usa en el diagnóstico de tifo.

	Las especies de *Rickettsia* son cocobacilos pequeños pleomorfos que funcionan como parásitos intracelulares. La inmunidad por lo general es de larga duración, con algunas excepciones: 1. El tifus endémico puede causar recaídas de 10-20 años después de la aparente recuperación (enfermedad de Brill Zinsser). 2. La fiebre de las trincheras se caracteriza por las recaídas.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	Son reacciones de aglutinación entre los antígenos (*Salmonella*, *Brucella* y *Proteus OX-19*) y los anticuerpos contra estos antígenos presentes en el suero del paciente. Los reactivos, suspensiones bacterianas, coloreadas y estandarizadas, aglutinan en presencia del anticuerpo homologo correspondiente en las muestras ensayadas.
Características de desempeño.	No aplica.
Tipo de muestra.	Suero. Referencia en el manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Preparación del paciente.	Ver. Manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos.	Tubo vacutainer rojo o dorado para la obtención de suero sanguíneo. Ver. Manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos.	• Kit de antígenos febriles: 1. Frasco gotero con tapón de rosca contenido 5 ml de Antígeno “O” (somático 9,12) de *S. typhi.* 2. Frasco gotero con tapón de rosca contenido 5 ml de Antígeno “H” (flagelar) de *S. typhi.* 3. Frasco gotero con tapón de rosca contenido 5 ml de Antígeno “Paratyphi AH” (flagelar a). 4. Frasco gotero con tapón de rosca contenido 5 ml de Antígeno “Paratyphi BH” (flagelar b 1,2). 5. Frasco gotero con tapón de rosca contenido 5 ml de Antígeno “Brucella”, de *Brucella abortus.* 6. Frasco gotero con tapón de rosca contenido 5 ml de Antígeno “Proteus OX-19”. 7. Control positivo y control negativo

	No provistos: • Placas de vidrio con divisiones. • Aplicadores o palillo de madera. • Bolsa roja y recipiente punzocortante.
Controles ambientales y de seguridad	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	No existe referencia internacional para la estandarización de la sensibilidad de estos reactivos, por lo que se utiliza un control interno constituido por suero animal que contiene anticuerpos frente a cada uno de los antígenos citados anteriormente y que ha sido titulado con reactivos comerciales de calidad reconocida.
Pasos del procedimiento.	*Método de aglutinación rápida en placa:* 1. Utilizar placas de vidrio con divisiones. 2. Anotar el antígeno que corresponda a cada serie. 3. Depositar en los cuadros de cada serie: 0.04 ml de suero del paciente para los antígenos febriles: A, B, O, H y P OX-19. 4. Depositar en un cuadro 0.08 ml de suero del paciente para Brucella abortus. 5. Agregar una gota del antígeno correspondiente a cada una de las cantidades de suero. 6. Mezclar con un aplicador limpio, utilizando uno para cada cuadro de la serie. 7. Agitar suavemente la placa por rotación de 80 a 100 rpm durante 1 minutos en agitador. 8. Leer con luz directa en el microscopio. 9. Observar la aglutinación microscópica y valorar los resultados identificando la posible dilución de la muestra. 10. Depositar en los cuadros de cada serie 0.02, 0.01 y 0.005 ml de la muestra para: A, B, O, H y P OX-19 y repetir los pasos del 5 al 9.

11. Depositar en los cuadros 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml de la muestra para Brucella abortus y repetir los pasos del 5 al 9.
12. Valorar las aglutinaciones para emitir los resultados de la siguiente manera.

Dilución	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005
Título A,B,O,H y P OX-19		1:40	1:80	1:160	1:320
Brucella abortus	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320

Referencia Inserto.

Procedimientos de control de la calidad.

Es recomendable el uso de los controles, tanto positivo como negativo, para asegurar la validez de los resultados diarios.

Interferencias

No aplica.

Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.

Dilución	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005
Título A,B,O,H y P OX-19		1:40	1:80	1:160	1:320
Brucella abortus	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320

Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.

	A	B	O	H	Br	Px
Negativo	< 1:80	< 1:80	< 1:80	< 1:80	< 1:40	< 1:80

Intervalo reportable de los resultados del examen.

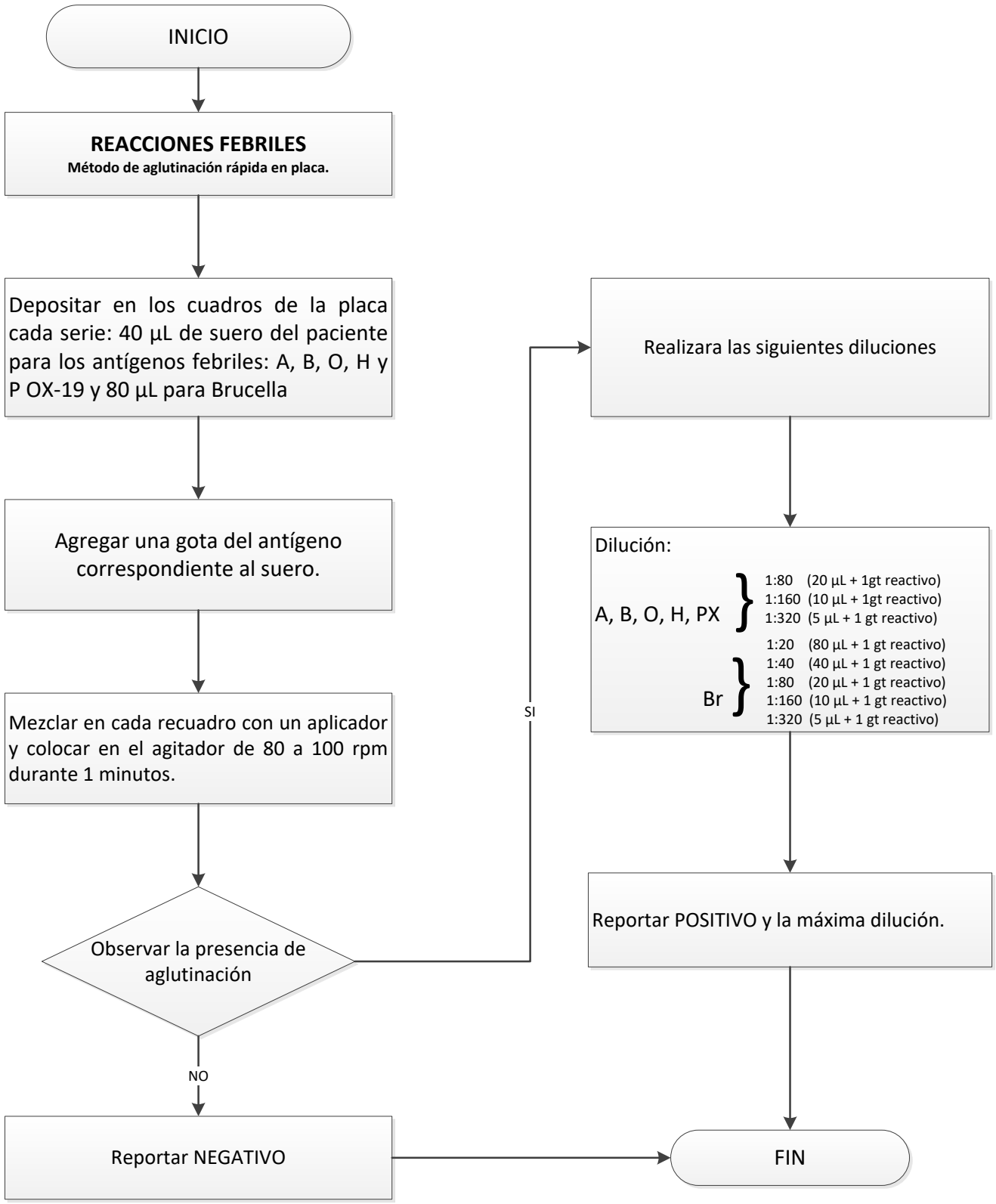
	A	B	O	H	Br	Px
Positivo	> 1:80	> 1:80	> 1:80	> 1:80	> 1:40	> 1:80

Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.

No aplica.

Valores de alerta o críticos.	No aplica.
Interpretación clínica del laboratorio.	Los antígenos febriles se usan para detectar anticuerpos en el suero del paciente contra la Salmonella, Brucella y Rickettsias (reacción cruzada con Proteus OX-19). Estas reacciones se basan en el hecho de que cuando el organismo humano es invadido por agentes infecciosos, responde produciendo anticuerpos aglutinantes los cuales se ponen de manifiesto al entrar en contacto el antígeno con el anticuerpo específico. El título del anticuerpo depende del tipo y curso de la enfermedad. Para que los resultados tengan un valor diagnóstico, debe aumentar, por lo que se deben tomar 2 muestras separadas por un periodo de tiempo de 4 semanas para ser comparadas y emitir un diagnóstico.
Fuentes potenciales de variación.	No aplica.
Referencia.	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO

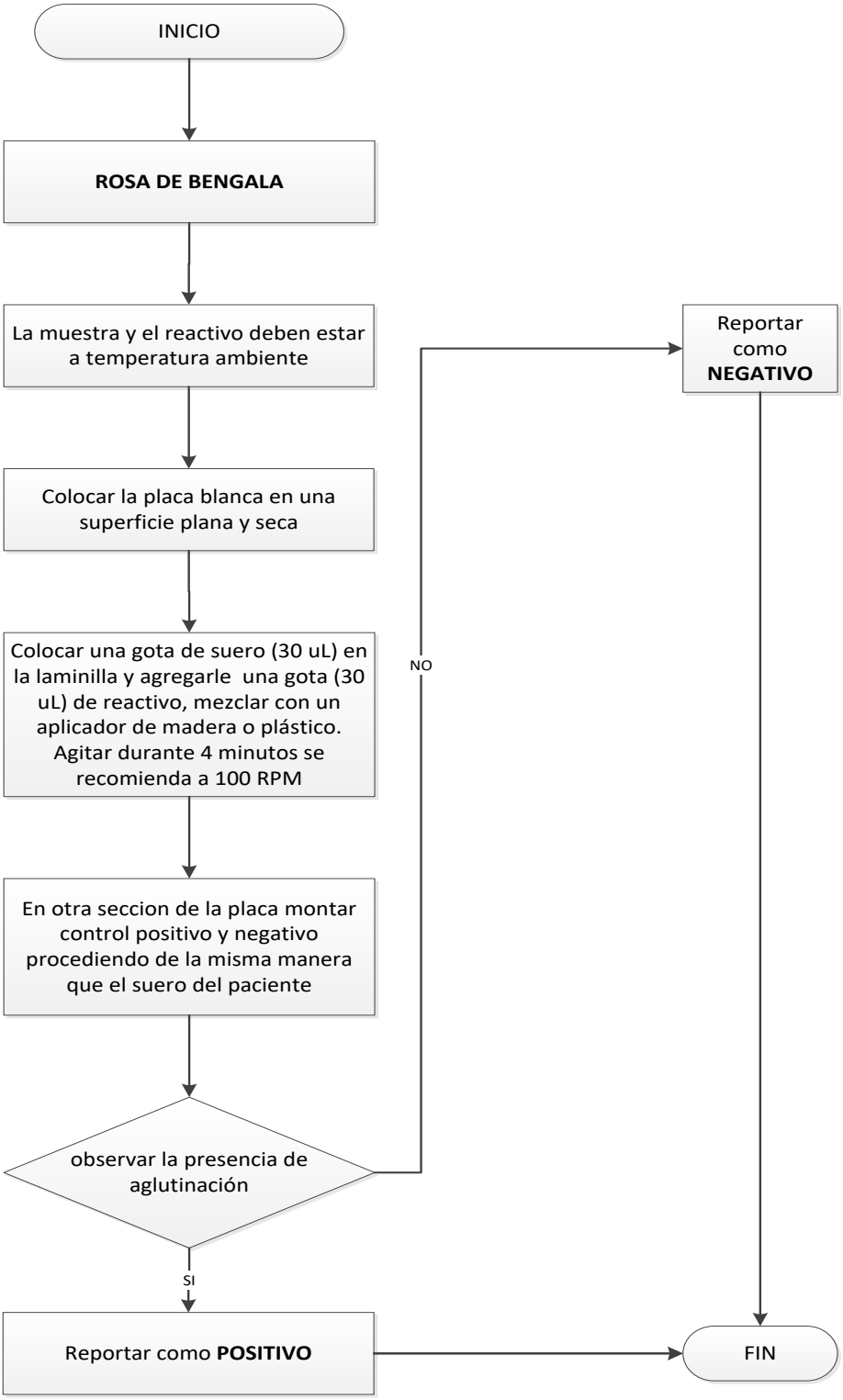


ROSA DE BENGALA	
Propósito del examen	Determinar mediante la prueba de rosa de bengala la presencia de anticuerpos producidos por la reacción inmunológica provocada por alguno de los diferentes tipos de Brucella (Brucella melitensis, abortus y suis).
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	El antígeno Rosa de Bengala, es una suspensión estandarizada de antígeno somático de Brucella abortus, en una solución reguladora de pH ácido, para el diagnóstico serológico de brucelosis. En el procedimiento de aglutinación en placa se eliminan reacciones inespecíficas que si se presentan con el antígeno de Huddleson. Por lo tanto la utilización de este reactivo proporciona resultados más específicos, por lo que resulta una excelente prueba tamiz.
Características de desempeño	Sensibilidad de 25 UI/ml
Tipo de muestra.	Suero. Referencia manual de toma de muestra, MAN-TM-01.
Preparación del paciente.	Ver. Manual de toma de muestra, MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos.	Tubo vacutainer dorado o rojo para la obtención de suero sanguíneo.
Equipo y reactivos requeridos	• Centrifuga, Agitador eléctrico y antígeno Rosa de Bengala: • Reactivo antígeno Rosa de Bengala Beli: Es una suspensión de Brucella abortus, estandarizada para evidenciar títulos iguales o mayores a 30 µl de anticuerpos homólogos contra Brucella abortus. • Suero control positivo: Es un suero líquido obtenido en conejo con un título mayor a 30 µl. • Reactivo control negativo: Es un suero líquido obtenido en conejo que no aglutina a Brucella. • El antígeno y los sueros son estables de 2 – 8 ºC hasta sus fechas de caducidad respectivas. El antígeno no debe congelarse.
Controles ambientales y de seguridad.	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato

	cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	No aplica.
Pasos del procedimiento.	<u>Aglutinación en placa</u> 1. Colocar 30 µl del suero en la tarjeta de aglutinación que se adjunta. 2. Colocar 30 µl del antígeno rosa de bengala. El antígeno suministra en un frasco de polietileno con dosificador. 3. Mezclar el suero con el antígeno utilizando un aplicador de madera. 4. Agitar la tarjeta durante 4 minutos a 100 rpm y observar la presencia o ausencia de aglutinación.
Procedimientos de control de la calidad.	1. Colocar 30 µl del suero positivo y 30 µl del suero negativo a probar en la tarjeta de aglutinación que se adjunta. 2. Colocar 30 µl del antígeno rosa de bengala. El antígeno suministra en un frasco de polietileno con dosificador. 3. Mezclar el suero con el antígeno utilizando un aplicador de madera. 4. Agitar la tarjeta durante 4 minutos a 100 rpm y observar la presencia de aglutinación en el positivo y ausencia de aglutinación en el negativo.
Interferencias.	No debe utilizarse sueros hemolizados, ni lipémicos ya que puede haber interferencia en el resultado.
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	No aplica.
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica.	Positivo.
Intervalo reportable de los resultados del examen.	Negativo. Positivo.

Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores de alerta o críticos.	No aplica.
Interpretación clínica del laboratorio	Una aglutinación positiva indica la presencia de cuando menos 30 µl de cuerpos contra B. abortus. La prueba de aglutinación en placa con el antígeno rosa de bengala es una prueba de selección, por lo que es recomendable realizar a los sueros positivos, pruebas cuantitativas para establecer el título de anticuerpos.
Fuentes potenciales de variación.	No aplica.
Referencias.	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO



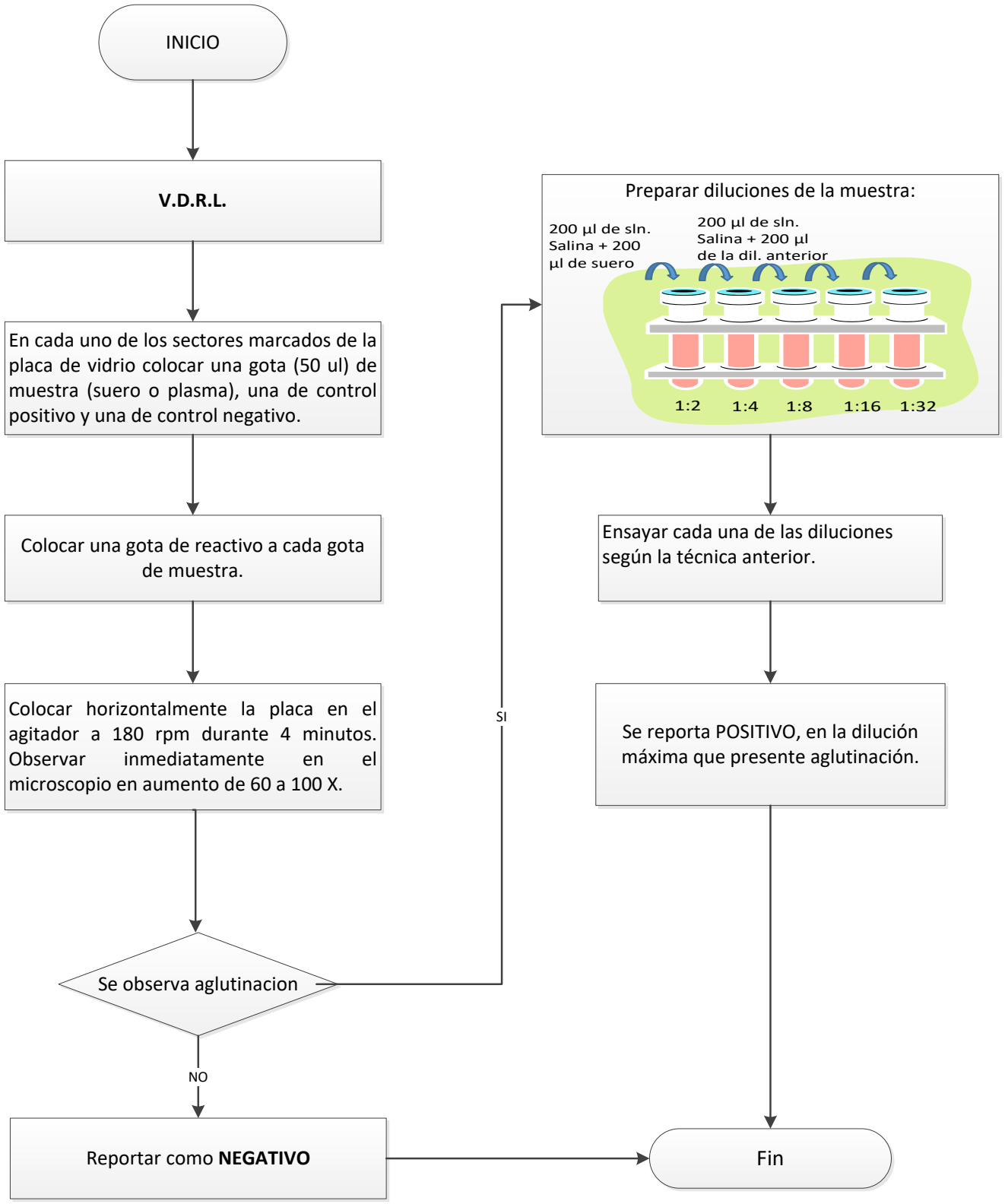
VENEREAL DISEASE RESEARCH LABORATORY (VDRL)	
Propósito del examen	La sífilis es una enfermedad venérea causada por el *Treponema pallidum*, que invade las mucosas intactas o la piel en áreas de abrasiones. El contacto sexual es la forma más común de la transmisión. La detección y tratamiento de la enfermedad en sus estadios tempranos es fundamental al fin de evitar complicaciones graves como la sífilis cardiovascular, neurosífilis y sífilis congénita. El diagnóstico de esta enfermedad sufre la carencia de un método para cultivar el microorganismo en medios de laboratorio y la dificultad para detectarlo en estadios de la enfermedad en los que no se observan lesiones epidérmicas. Sin embargo, desde el comienzo de la infección aparecen en el suero del individuo infectado sustancias denominadas "reaginas", que reaccionas con antígenos de cardiolipina, lecitina y colesterol. Estas reaginas junto a los signos clínicos son por lo tanto los procedimientos más rápidos y útiles disponibles para el diagnóstico de la sífilis.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.	Las "reaginas", presentes en individuos infectados por *T. pallidum* se detectan en suero por la reacción con un antígeno cardiolipídico purificado y estabilizado. Si la muestra contiene reagina, esta se unirá al antígeno produciendo una floculación visible en el microscopio. Las reacciones inespecíficas se evitan con el empleo de antígeno altamente purificado y el agregado de cloruro de colina característica de la técnica USR (Unheated Serum Reagin) en la que no es necesario inactivar la muestra.
Características de desempeño.	Sobre 2140 muestras de un servicio hospitalario, ensayadas usando V.D.R.L. test e inmunofluorescencia como método de referencia, se observó una concordancia superior al 96%.
Tipo de muestra.	Suero y líquido cefalorraquídeo (LCR). Ver Manual de toma de

	muestra MAN-TM-01.
Preparación del paciente.	Ver Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Tipo de contenedor y aditivos.	Tubo vacutainer rojo o dorado para la obtención de suero sanguíneo. No se requieren aditivos para suero o LCR. Referencia Manual de toma de muestra MAN-TM-01.
Equipo y reactivos requeridos.	✓ Centrifuga, agitador eléctrico, microscopio, y reactivo para la detección de VDRL: 1. Reactivo A: Suspensión acuosa de antígeno de cardiolipinas y lecitina purificados, en buffer de fosfatos con cloruro de colina y EDTA de acuerdo a las indicaciones de la OMS. 2. Control positivo: dilución del suero inactivado, reactivo. 3. Control negativo: dilución del suero inactivado, no reactivo. No provistos: ✓ Solución fisiológica para prueba semicuantitativa. ✓ Placa de vidrio con divisiones.
Controles ambientales y de seguridad.	Utilizar el equipo de seguridad propio de un laboratorio de análisis clínicos (lentes de seguridad, bata, guantes, zapato cerrado y suela antiderrapante) para el proceso del suero del paciente. Referencia: Manual de seguridad e higiene MAN-SH-01 y Manual para la atención a contingencias en el manejo de RPBI MAN-RPBI-01.
Procedimientos de calibración.	No aplica.
Pasos del procedimiento.	*Prueba cualitativa en suero o plasma:* ✓ Tanto los reactivos como la muestra deben estar a temperatura ambiente entes de realizar la prueba. 1. En cada uno de los sectores marcados de la placa colocar: 50 ul de muestra o controles y una gota de reactivo A. 2. Agitar horizontalmente la placa en el agitador a 180 rpm durante 4 minutos. Observar inmediatamente en el microscopio en aumento de 60 a 100 X. En busca de

	floculación de la prueba. *Prueba cuantitativa en suero o plasma:* 1. Preparar diluciones de la muestra: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 con solución fisiológica y realizar para cada dilución la prueba como se describe en la prueba cualitativa. 2. Referencia inserto
Procedimientos de control de la calidad.	Procesar los controles provistos; positivos y negativo aplicando el mismo procedimiento que las muestras problema.
Interferencias.	Hemólisis o hiperlipemia pueden ocasionar resultados erróneos. Resultados falsamente positivos pueden ser observados en individuos con cuadros patológicos como hepatitis, influenza, brucelosis, lepra, malaria, asma, tuberculosis, cáncer, diabetes y enfermedades autoinmunes. Estos casos no son muy comunes y generalmente presentan reacciones con títulos bajos y una historia clínica que no coincide con las características de la sífilis. Es imprescindible por estos motivos ante toda prueba cualitativa reactiva realizar la prueba semicuantitativa. Resultados falsamente negativos pueden presentarse cuando se presenta el fenómeno de prozona. Por este motivo de recomienda repetir la prueba en suero diluido 1:5 con solución fisiológica para verificar el resultado. Si en estas condiciones se observa floculación la prueba es reactiva. A pesar de las ventajas de este método, sus resultados al igual que los de cualquier prueba serológica, solo constituye un dato auxiliar de diagnóstico que debe corroborarse con la historia clínica del paciente.
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados.	Reportar como positivo la dilución más alta en la que se haya observado floculación.
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión	Reactivo de 1:8.

clínica.	
Intervalo reportable de los resultados del examen.	Reactivo 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32.
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos.	No aplica.
Valores de alerta o críticos.	Reactivo a partir de 1:8.
Interpretación clínica del laboratorio	Es la reacción más empleada hoy en día en forma rutinaria, sin embargo es presuntiva para demostrar la presencia de anticuerpos treponemicos con fines epidemiológicos, pues una reacción con títulos positivos menores a 1:8 y sin manifestaciones clínicas presentes indica la ausencia de sífilis. Una reacción Reactiva con títulos superiores a 1:4 y con antecedentes clínicos está a favor de sífilis, sin embargo se sugiere realizar una prueba confirmatoria de la presencia del Treponema pallidum.
Fuentes potenciales de variación.	No aplica
Referencias.	Inserto del reactivo.

DIAGRAMA DE FLUJO



HISTORIAL DE REVISIONES

No. Revisión	Descripción de la Revisión	Fecha de Revisión
0	Liberado	11/Enero/2018
1	Se anexaron las especificaciones de preparación del paciente, tipo de contenedor y aditivos, instrucciones para determinar los resultados cuantitativos, se acomodó el manual conforme los requerimientos en el apartado 5.5.3 de la norma NMX-EC-15189-IMNC-2015	26/Marzo/2019
2	Se modificó el diagrama de flujo de PSA y se agregó la prueba rápida de 2019/ nCoV IgG/IgM. Se agregó la prueba rápida de antígeno SARS-COV-2	12/Mayo/2021