

# HEV IgM

## Anticuerpo IgM contra el Virus de la Hepatitis E (Elisa)

### Uso Previsto:

Inmunoensayo ligado a enzimas in vitro suministrado para la detección de HEV-IgM en suero o plasma humano. Está destinado a ser utilizado como una ayuda en el diagnóstico complementario de la infección por hepatitis E aguda y estudios de prevalencia entre la población.

### Resumen:

Este kit emplea el método ELISA de captura en fase sólida para la detección de anticuerpos IgM contra HEV (anti-HEV) en suero o plasma con un procedimiento de incubación de dos pasos. El micropocillo de poliestireno está recubierto previamente con anticuerpo monoclonal anti-IgM humana (cadena  $\mu$ ) de ratón activado purificado. El antígeno HEV recombinante conjugado con HRP sirve como trazador. TMB es sustrato para HRP. La reacción enzimática con el sustrato TMB produce un cambio de color, y la intensidad de la absorbancia a 450 nm indica la presencia o ausencia de anticuerpos IgM Anti-VHE en la muestra. La prueba es específica, sensible, reproducible y fácil de operar. Es para el diagnóstico de infecciones tempranas y encuestas epidémicas.

### Materiales Proporcionados:

- Microplaca recubierta, 8 x 12 tiras, 96 pocillos. Recubierta con antígeno.
- Diluyente de muestra, 1 vial, 12 mL.
- Conjugado enzimático (anti humano IgM-HRP), 1 vial, 12 mL.
- Control Positivo, 1 vial, 1 mL.
- Control negativo, 1 vial, 1 mL.
- Concentrado de solución de lavado, 1 vial, 30 ml (concentrado 20X).
- Sustrato A, 1 vial, 6 mL.
- Sustrato B, 1 vial, 6 mL.
- Solución de parada (2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1 vial, 6 mL.
- Bolsa plástica, 1 unidad.
- Inserto: 1 copia.
- Tapa Placa: 2 piezas.

### Materiales Requeridos (Pero no provistos):

- Lector de microplacas con capacidad de absorción de longitudes de onda de 450 nm y 620 nm.
- Lavador de microplacas.
- Incubadora.
- Sacudidor de platos.
- Micropipetas y micropipetas multicanal que suministran 50  $\mu$ L con una precisión superior al 1,5 %.
- Papel absorbente.
- Agua desmineralizada.

### Precauciones:

- Las muestras deben ser frescas, evitar la hemólisis, el crecimiento de bacterias y la congelación y descongelación repetitivas.
- No intercambie reactivos entre lotes de kits. El papel de sello no se puede usar repetidamente.
- Mezcle bien los reactivos antes de usarlos. Si se forman cristales en ciertos reactivos, como el tampón de lavado, puede usarse después de calentar y mezclar bien.
- Siga exactamente las instrucciones durante el ensayo, especialmente en cuanto a temperatura y tiempo para las reacciones. Todos los dispositivos de pipeteo deben usarse con cuidado y calibrarse regularmente siguiendo las instrucciones del fabricante.
- Coloque los reactivos restantes en la bolsa sellada y regrese a 2-8°C a tiempo.
- Para evitar la contaminación cruzada, use guantes y trajes de trabajo durante todo el procedimiento y cumpla estrictamente las normas de desinfección y aislamiento. Deseche todas las muestras y materiales utilizados para realizar la prueba. La solución de hipoclorito de sodio líquido de 5,0 g/l o el vapor a alta presión a 121 °C se pueden utilizar para desinfectar las muestras y los materiales antes de desecharlos (el suero de control positivo del kit ya se ha inactivado).

### Almacenamiento y Estabilidad:

- Almacenar a 2-8°C.
- Selle y devuelva los reactivos no utilizados a 2-8°C, en cuyas condiciones se mantendrá la estabilidad durante 2 meses o hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, lo que ocurra primero.

### Recolección y Preparación de Muestras:

Las muestras de suero sanguíneo se preparan rutinariamente a partir de una vena. Las muestras de plasma sanguíneo se preparan de forma rutinaria con la cantidad habitual de anticoagulante, como heparina o citrato de sodio. La muestra se puede almacenar a 4°C si se analiza dentro de los dos días. Las muestras que no se necesiten en un plazo de 3 días deben almacenarse a -20 °C. Evite la hemólisis y la congelación y descongelación repetitivas de las muestras. Las muestras con nubes o precipitaciones deben centrifugarse o filtrarse antes de la prueba. Evite que el suero se contamine con bacterias durante la recolección y el almacenamiento.

### Control de Calidad:

Si la OD de los controles positivos no es inferior a 1,0, la OD de los negativos no es superior a 0,1, se valida el resultado del ensayo. De lo contrario, repita la prueba.

### Procedimiento de Prueba:

- Lleve el kit ELISA para anticuerpos IgM contra el virus de la hepatitis E (todos los reactivos) y las muestras a temperatura ambiente antes de usarlas (aproximadamente 30 minutos).
- Diluya la solución de lavado concentrado 1:19 con agua desmineralizada.
- Para cada prueba, establezca un blanco, dos controles positivos y tres negativos. Agregue 100  $\mu$ l de suero de control positivo y negativo en los pocillos de control positivo y negativo, respectivamente.
- Agregue 100  $\mu$ l de diluyentes de muestra en cada uno de los pocillos de prueba, luego 10  $\mu$ l de muestra de prueba en los pocillos de prueba. Pipetee hacia arriba y hacia abajo para mezclar bien las muestras.
- Cubra los pozos con papel de sello y luego incube 30 minutos a 37°C.
- Deseche el líquido de todos los pocillos y llénelos con solución de lavado. Deje reposar durante 15 segundos, deseche el líquido en todos los pocillos y llénelos con solución de lavado. Repita 5 veces y seque bien después del último lavado.
- Agregue 100  $\mu$ l de conjugado enzimático en cada pocillo excepto en el blanco.
- Cubra los pozos con papel de sello y luego incube 30 minutos a 37°C.
- Deseche el líquido de todos los pocillos y llénelos con solución de lavado. Deje reposar durante 15 segundos, deseche el líquido en todos los pocillos y llénelos con solución de lavado. Repita 5 veces y seque bien después del último lavado.
- Agregue 50  $\mu$ l de sustrato A y B respectivamente a cada pocillo, incluido el pocillo en blanco. Mezclar suavemente, proteger de la luz e incubar 15 minutos a 37°C.
- Agregue 50  $\mu$ l de solución de parada en cada pocillo para detener la reacción, incluido el pocillo en blanco.
- Mida la absorbancia a 450 nm contra el blanco o Lea la absorbancia de cada pocillo a 450 nm (usando de 620 a 630 nm como longitud de onda de referencia para minimizar las imperfecciones de los pocillos)

### Interpretación de Resultados:

Método colorimétrico

Cálculo del valor de corte:

COV = 0,10 + la DO media de los controles negativos (si la absorbancia de los controles negativos está por debajo de 0,05, calcúlela como 0,05. Si la absorbancia de los controles negativos está por encima de 0,05, calcúlela como su valor original).

DO450 positivo de la muestra  $\geq$  COV

OD450 negativo de la muestra  $<$  COV

### Limitaciones:

La prueba es para diagnóstico cualitativo y auxiliar. La confirmación de la infección debe referirse al diagnóstico clínico y de otro tipo.

