

# NEW LAV BLOT I

18 determinaciones

72251

---

**EQUIPO DE CONFIRMACIÓN PARA LA DETECCIÓN  
DE ANTICUERPOS ANTI-HIV-1 EN SUERO/PLASMA MEDIANTE  
INMUNOTRANSFERENCIA**

---

**IVD**

**Control de calidad del fabricante**

*Todos los productos fabricados y comercializados por la sociedad Bio-Rad se hallan bajo un sistema de garantía de calidad desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización de los productos finales. Cada lote de producto final se somete a un control de calidad y sólo se comercializa si está en conformidad con los criterios de aceptación. El fabricante conserva la documentación referente a la producción y al control de cada lote.*

**BIO-RAD**

## ÍNDICE

- 1 - USO PREVISTO
- 2 - VALOR CLÍNICO
- 3 - PRINCIPIO DE LA PRUEBA
- 4 - CONTENIDO DEL EQUIPO
- 5 - PRECAUCIONES
- 6 - INSTRUCCIONES DE SALUD Y SEGURIDAD
- 7 - EQUIPAMIENTO NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
- 8 - RECONSTITUCIÓN DEL REACTIVO Y CONSERVACIÓN
- 9 - RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS
- 10 - PROCEDIMIENTO DE PRUEBA
- 11 - VALIDACIÓN, LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
- 12 - RENDIMIENTO
- 13 - LIMITACIONES DE LA PRUEBA
- 14 - BIBLIOGRAFÍA

## **1 - USO PREVISTO**

El equipo NEW LAV-BLOT I está diseñado para la detección de anticuerpos humanos anti-HIV-1 en el suero o en el plasma mediante inmunotransferencia para confirmar una respuesta positiva anti-HIV-1 y determinar su especificidad antigénica dentro del ámbito del diagnóstico del SIDA.

## **2 - VALOR CLÍNICO**

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) fue descrito e identificado como enfermedad bien caracterizada en 1981. Se aislaron tres retrovirus (LAV, HTLV III, ARV), relacionados con el grupo de los lentivirus y no diferenciados mediante las pruebas serológicas convencionales, a partir de los linfocitos de pacientes con SIDA o con pródromos del SIDA. La decisión de agrupar estos tres virus con la misma denominación (HIV) se tomó en 1986.

La transmisión vírica se produce fundamentalmente por vía sexual o sanguínea. Las autoridades sanitarias tomaron diversas medidas para limitar la diseminación del virus; se hicieron necesarios los controles de las donaciones de sangre para eliminar muestras potencialmente infecciosas.

El cribado se basa en la detección de anticuerpos en el suero o el plasma usando la técnica de inmunovaloración enzimática.

La calidad de los antígenos empleados en estas pruebas no permite eliminar algunas respuestas inespecíficas. Teniendo en cuenta la gravedad del diagnóstico, es necesario confirmar o invalidar los resultados de la prueba de cribado mediante otra técnica. Los expertos de la OMS recomiendan la inmunotransferencia (Western Blot).

Esta técnica permite caracterizar los anticuerpos dirigidos contra cada proteína vírica, confirmando así la seropositividad o bien identificando posibles reacciones inespecíficas.

El equipo NEW LAV-BLOT I incluye todos los reactivos necesarios para realizar pruebas confirmadoras mediante inmunotransferencia.

## **3 - PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba se basa en una técnica de ELISA indirecta sobre una tira de nitrocelulosa que contiene todas las proteínas constituyentes del HIV-1 y un control interno anti-IgG. La banda correspondiente al control interno se encuentra en el extremo de la tira, sin ningún número, antes de la reacción P 18 y permite validar la adición de la muestra y los reactivos, así como el progreso correcto del procedimiento.

Las proteínas del HIV-1 inactivadas se separan de acuerdo con sus pesos moleculares mediante electroforesis en gel de poliacrilamida en medio disociativo y reductor y posteriormente se transfieren eléctricamente a una hoja de membrana de nitrocelulosa.

El procedimiento comprende los siguientes pasos :

1. Rehidratación de la tira.
2. Incubación de las muestras a confirmar o de los sueros control.  
Si hay anticuerpos anti-HIV-1, se unen a las proteínas víricas identificadas, presentes en la tira.
3. Después de lavar, se incuban los anticuerpos anti-IgG humana marcados con fosfatasa alcalina. El conjugado se une a los anticuerpos anti-HIV-1 capturados en la fase sólida.
4. Después de lavar y retirar el exceso de conjugado, la solución de revelado del color permite demostrar la actividad enzimática de los complejos unidos a la nitrocelulosa.
5. El aspecto de las bandas coloreadas específicas permite demostrar la presencia de anticuerpos anti-HIV-1 en la muestra.

#### 4 - CONTENIDO DEL EQUIPO

Todos los reactivos están diseñados para uso exclusivamente en diagnóstico "in vitro". Cada equipo contiene reactivos suficientes para 18 determinaciones. Las determinaciones pueden realizarse en múltiples manipulaciones independientes.

ETIQUETA		COMPOSICIÓN DEL REACTIVO	PRESENTACIÓN
R1	HIV-1 Nitrocellulose Strip	Tira de Nitrocelulosa de HIV-1 Activada mediante transferencia de proteínas víricas del HIV-1 y control interno anti-IgG Las tiras se colocan en bandejas desechables	18 tiras en 3 bandejas (6 celdillas cada una)
R2	Buffer Solution/Diluent (5X)	Solución de Lavado/Diluyente (Concentrado 5X) Contiene cloroforno al 0,5%	1 frasco 100 ml
R3	Negative Control	Control Negativo Suero humano negativo para HBsAg, anti-HIV-1 y HIV-2 y anticuerpos anti-HCV Conservante: acida sódica < 0,1%	1 frasco 0,2 ml
R4	Anti-HIV-1 Positive Control	Control Positivo anti-HIV-1 Suero humano positivo para anticuerpos anti-HIV-1, negativo para anticuerpos anti-HCV y HBsAg, inactivado por calor Agente conservante: acida sódica < 0,1%	1 frasco 0,2 ml
R5	Conjugate	Conjugado Anticuerpos de camero anti-IgG humana marcados con fosfatasa alcalina Conservante: acida sódica < 0,1%	1 frasco 40 ml
R6	Color Development Solution (BCIP/NBT)	Solución de Revelado del Color (BCIP/NBT) 5 bromo-4 cloro-3 indolil fosfato (BCIP) y Nitroazul de tetrazolio (NBT) como tampón de revelado	1 frasco 40 ml

#### 5 - PRECAUCIONES

La fiabilidad de los resultados depende del seguimiento correcto de las siguientes Buenas Prácticas de Laboratorio:

- No usar reactivos caducados.
  - No mezclar reactivos de distintos lotes dentro de una misma valoración.
- Nota: Es posible usar otros lotes solución de lavado (identificación de la etiqueta: R2 en azul) y de solución de revelado del color (R6) con la limitación de que se use el mismo lote dentro de una misma valoración.**
- Antes de su uso, es necesario esperar 30 minutos para permitir que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente (18-30°C).
  - Reconstituir cuidadosamente los reactivos evitando cualquier contaminación.
  - Usar material de vidrio lavado y aclarado concienzudamente con agua destilada o, preferiblemente, material desechable.
  - Usar una nueva punta de dispensación para cada muestra.
  - No usar nunca el mismo recipiente para dispensar la solución conjugada y de revelado del color.
  - Comprobar la exactitud y precisión de las pipetas y si los instrumentos se están funcionando correctamente.
  - No cambiar el procedimiento de valoración.
  - Se estudiarán los sueros control en paralelo con las muestras de los pacientes para cada serie de pruebas.
  - No permita que las tiras se sequen más de 10 minutos durante la prueba.

- Si hay partículas suspendidas en la solución de revelación, permita que se depositen en el vial antes de pipetear. (Estas partículas no interfieren con la prueba).

## 6 - INSTRUCCIONES DE SALUD Y SEGURIDAD

Todos los reactivos del equipo están diseñados para uso en diagnóstico "in vitro".

- No manipule nunca las tiras con las manos desnudas: Use tenacillas de plástico.
- Póngase guantes desechables para manipular los reactivos.
- No pipetee con la boca.
- El material de origen humano empleado en la preparación del control negativo (R3) ha sido estudiado y se ha comprobado que no es reactivo para el antígeno de superficie de del virus de la hepatitis B (HBsAg) y para anticuerpos anti-HIV-1, anti-HIV-2 y anti-HCV.
- El material de origen humano empleado en la preparación del control positivo (R4) ha sido estudiado y se ha comprobado que no es reactivo para el antígeno de superficie de del virus de la hepatitis B (HBsAg) y anticuerpos anti-HCV. Ha sido inactivado por calor.
- Como ningún método de prueba conocido puede ofrecer la seguridad completa de la ausencia del HIV o los virus de la hepatitis B o C u otros agentes infecciosos, considere a estos reactivos, así como a las muestras de los pacientes, como potencialmente infecciosos y manipúelos con cuidado.
- Cualquier equipamiento en contacto directo con las muestras y los reactivos de origen humano así como con las soluciones tampón debe considerarse un producto contaminado y debe tratarse en consecuencia.
- Evite derramar muestras o soluciones que contienen muestras.
- Las superficies contaminadas deben limpiarse con lejía diluida al 10%. Si el líquido contaminante es un ácido, las superficies contaminadas se deben neutralizar antes con bicarbonato sódico, luego se deben limpiar con lejía y se deben secar con papel absorbente. Debe desecharse el material empleado para la limpieza en un contenedor de residuos biológicos peligrosos.
- Deben desecharse las muestras, los reactivos de origen humano, así como el material y los productos contaminados después de descontaminarlos:
  - empapando en lejía a una concentración final de hipoclorito sódico al 5% (1 volumen de lejía por 10 volúmenes de líquido contaminado o agua) durante 30 minutos.
  - o mediante autoclave a 121°C durante un mínimo de 2 horas.

**PRECAUCIÓN:** no colocar en el autoclave soluciones con hipoclorito sódico.

- No olvide neutralizar o someter a autoclave las soluciones de desecho de lavado o cualquier líquido que contenga muestras biológicas antes de tirarlo por el sumidero.
- Las sustancias químicas deben manejarse y eliminarse de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- Algunos reactivos contienen acida sódica como conservante. La acida sódica puede formas acidas de cobre o plomo en las tuberías del laboratorio. Dichas acidas son explosivas. Para impedir la formación de acidas, irrigue las tuberías con una gran cantidad de agua si se eliminan las soluciones con acidas por el sumidero después de su inactivación.

## 7 - EQUIPAMIENTO NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- Agua destilada o desmineralizada.
- Probetas graduadas de 100 ml, 250 ml y 500 ml.
- Pipetas graduadas de 2 ml.
- Pipetas automáticas o semiautomáticas, ajustables o fijas, que permiten la medición o la dispensación de 20 µl.
- Guantes desechables.
- Bomba de vacío de chorro líquido con frasco de seguridad.
- Hipoclorito sódico (Lejía).
- Papel absorbente.
- Tenacillas.
- Agitador de 1, 2 ó 3 dimensiones (agitación para conseguir un medio homogéneo e inmersión total de las tiras durante los pasos de agitación).
- Contenedor para residuos biopeligrosos.
- Gafas protectoras.

## 8 - RECONSTITUCIÓN DE LOS REACTIVOS Y CONSERVACIÓN

Cada equipo contiene reactivos suficientes para 18 determinaciones. Las determinaciones pueden realizarse en múltiples valoraciones independientes.

### Reactivos listos para usar

- R1: Tiras de nitrocelulosa de HIV-1
- R3: Control negativo
- R4: Control positivo anti-HIV-1
- R5: Conjugado
- R6: Solución de revelado del color (BCIP/NBT)

### Reactivos a reconstituir

- R2: Solución de lavado/diluyente (5X)

**Preparación:** agite el vial antes de la recogida. Diluya la solución de lavado/diluyente a 1:5 en agua destilada (p. ej., para una bandeja completa: 30 ml de solución de lavado + 120 ml de agua destilada).

### Conservación

Conserve el equipo a +2-8°C. Una vez abierto, todos los reactivos del equipo pueden conservarse a +2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la caja (excepto si hay instrucciones específicas).

La solución de lavado/diluyente (R2) diluida es estable durante 1 mes a +2-8°C.

Evite cualquier contaminación microbiana de los reactivos.

## 9 - RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Recoja una muestra de sangre según las prácticas actuales.

Las pruebas deben realizarse con muestras de suero o plasma no diluidas (EDTA, heparina, citrato).

Extraiga el suero o el plasma del coágulo o los glóbulos rojos cuanto antes para evitar la hemólisis.

Una hemólisis excesiva puede afectar al rendimiento de la prueba. Las muestras con agregados deben aclararse mediante centrifugación antes de hacer la prueba. Las partículas de fibrina suspendidas o los agregados pueden dar resultados falsamente positivos.

Las muestras pueden conservarse a +2-8°C si la prueba se realiza en 7 días o se pueden congelar profundamente a -20°C. Las muestras de plasma se deben descongelar rápidamente calentándolas durante unos minutos a 40°C (para limitar la precipitación de la fibrina).

No deben usarse las muestras que se hayan congelado y descongelado más de 3 veces.

Si se deben enviar las muestras, deben envasarse de acuerdo con las normas en vigor para el transporte de agentes etiológicos.

**NO USAR MUESTRAS DE SUERO O PLASMA CONTAMINADAS, HIPERLIPIDÉMICAS O HIPERHEMOLIZADAS.**

*Nota: Las muestras con hasta 90 g/l de albúmina, 100 mg/l de bilirrubina, las muestras lipídicas con hasta el equivalente a 36 g/l de trioleína y las muestras hemolizadas con hasta 10 g/l de hemoglobina no afectan a los resultados de la prueba.*

## 10 - PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Antes usarlos, es necesario esperar 30 minutos para permitir que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente (18-30°C).

Retire la cubierta transparente de la bandeja que se va a usar.

Asegúrese de que el lado de la tira con la marca de referencia y el número está visible, de manera que las proteínas víricas de este lado se cubran con los diversos medios de reacción durante la prueba.

Las tiras se deben manejar cuidadosamente con tenacillas de plástico.

No permita que las tiras se sequen más de 10 minutos durante la prueba.

**Los controles suministrados deben utilizarse en paralelo con las muestras en cada serie de pruebas. El control positivo es necesario para validar e interpretar correctamente las bandas.**

2. Añada 2 ml de la solución de lavado/diluyente reconstituida a cada celdilla.

Incúbela durante 5 ± 1 minutos a temperatura ambiente (18-30°C) bajo agitación.

3. Añada 20 µl de cada suero de muestra o control a la celdilla correspondiente.

Incúbela durante 2 horas ± 5 minutos a temperatura ambiente (18-30°C) bajo agitación.

4. Vacíe completamente el contenido de cada celdilla usando una bomba de vacío con un colector que contenga un desinfectante (lejía al 25%).  
Asegúrese de que la tira no se mueve durante la aspiración; use el pozo de aspiración previsto para este fin.  
Lave cada tira con 2 ml de solución de lavado/diluyente reconstituida y retírela inmediatamente mediante aspiración siguiendo las mismas precauciones.  
Lave dos veces cada tira, permita el contacto durante 5 minutos, bajo agitación, con 2 ml de la solución de lavado/diluyente reconstituida (esto es, un total de 3 pasos de lavado).  
Retire la solución empleada para el último lavado.
5. Dispense 2 ml de conjugado a cada celdilla, la solución conjugada debe estabilizarse previamente a temperatura ambiente.  
Incúbela durante 1 hora  $\pm$  5 minutos a temperatura ambiente (18-30°C) bajo agitación.
6. Lavado: proceder como se describió en el paso 4
7. Dispensar 2 ml de solución de revelado del color en cada celdilla.  
Si hay partículas suspendidas en la solución de revelado, permita que se depositen en el vial antes de pipetear. (Estas partículas no interfieren con la prueba.)  
Incube bajo agitación y vigile el aspecto de la coloración. Deben observarse todas las bandas correspondientes a las proteínas víricas con el suero de control positivo. (Tiempo de revelado: 5 minutos al menos).
8. Detenga la reacción retirando la solución de revelado y enjuagando las tiras 3 veces con agua destilada.
9. Seque las tiras entre 2 hojas de papel absorbente a temperatura ambiente (18-30°C).  
Clasifique las tiras, colóquelas perfectamente usando la marca de referencia. Valide y posteriormente, interprete.  
**PRECAUCIÓN:** no pegar la banda de plástico adhesivo en el lado de la tira correspondiente a las proteínas víricas.

## 11 - VALIDACIÓN, LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### Validación

La banda de control interno anti-IgG debe estar presente con un color fuerte. Permite validar la adición de la muestra, los reactivos, así como el progreso correcto del procedimiento de prueba. La ausencia o la intensidad débil de la coloración de la banda de control interno anti-IgG indican que la muestra o los reactivos no se dispensaron o que no se siguió el procedimiento de la prueba.

Control positivo: están presentes todas las bandas correspondientes a las proteínas virales y la banda control.

Control negativo: no debe aparecer ninguna proteína viral y únicamente está presente la banda control.

### Lectura

La presencia de anticuerpos anti-proteínas constituyentes del HIV-1 en las muestras controladas se demuestra por la aparición de bandas coloreadas específicas (azul-púrpura). Su posición corresponde a las masas moleculares de las proteínas víricas enumeradas en la tabla siguiente.

### IMPORTANTE

Utilizar el control positivo (**Cf Figura Pag 26**) para localizar e identificar los anticuerpos revelados y comprobar la presencia de la banda del control interno en cada tira.

Se debe interpretar cada banda específica revelada.

DENOMINACIÓN	GENOMA	NATURALEZA	ASPECTO EN LA INMUNOTRANSFERENCIA
GP 160	ENV	Glucoproteína precursora de GP 110/120 y GP 41	Banda con bordes difusos
GP 110/120	ENV	Glucoproteínas de envuelta	Banda con bordes difusos
P 68/66	POL	Transcriptasa inversa	Banda clara
P 55	GAG	Precursor de las proteínas del núcleo	Doblete
P 52/51	POL	Transcriptasa inversa	Banda clara
GP 41	ENV	Glucoproteína transmembrana	Banda difusa
P 40	GAG	Precursor de las proteínas del núcleo	Banda clara
P 34/31	POL	Endonucleasa	Banda clara
P 24/25	GAG	Proteína del núcleo	Banda clara
P 18/17	GAG	Proteína del núcleo	A veces, un doblete

### Interpretación

INTERPRETACIÓN	CRITERIOS OMS*	CRITERIOS CRSS**
Positivo	2 ENV ± GAG ± POL	1 ENV + (1 GAG o 1 POL)
Indeterminado	1 ENV ± GAG ± POL GAG + POL GAG POL	GAG + POL GAG POL ENV
Negativo	Sin bandas Bandas no clasificadas	Sin bandas Bandas no clasificadas

\* Criterios OMS: Organización Mundial de la Salud, \*\* Criterios CRSS: Consortium for Retrovirus Serology Standardization.

### Nota:

- Los resultados indeterminados pueden reflejar una de las siguientes alternativas: sero-conversión, infección por HIV-2 o reacción cruzada debida a otros retrovirus.
- La contaminación con un suero positivo puede dar lugar a un perfil positivo o indeterminado.

## 12 - RENDIMIENTO

### Especificidad en donantes de sangre y pacientes hospitalizados

Se analizaron con el NEW LAV BLOT I un total de 419 muestras (214 de donantes de sangre y 205 de pacientes hospitalizados) que resultaron negativas en HIV con Elisa.

Se obtuvieron los mismos resultados (véase a continuación) tanto con los criterios de interpretación de la OMS como con los del CRSS.

		RESULTADOS		
Muestras	Número de Muestras	Negativos	Indeterminados	Positivos
Donantes de sangre	214	180	34	0
Pacientes hospitalizados	205	186	19	0
<b>Total</b>	<b>419</b>	<b>366</b>	<b>53</b>	<b>0</b>
		<b>87%</b>	<b>13%</b>	<b>0%</b>



### Especificidad en muestras que puedan presentar reacciones cruzadas

Se analizaron con el NEW LAV BLOT I 57 muestras negativas en HIV con Elisa y positivas en alguno de los virus o patologías siguientes: HBV, HCV, HTLV, HSV, EBV, VZV, CMV, HAMA, RF, ANA, Toxoplasmosis; así como 5 muestras de mujeres embarazadas.

MUESTRAS	RESULTADOS
5 mielomas, 4 HBV, 5 HSV IgG	Todos negativos
5 HAMA	1 indeterminado (p25)
5 RF	2 indeterminados (leve p18)
5 ANA	3 indeterminados (leve p68, p55, p34)
5 mujeres embarazadas	1 indeterminado (p52)
4 HTLV	1 indeterminado (p55)
4 HCV	1 indeterminado (p55, p18)
5 CMV IgG	1 indeterminado (p25)
5 EBV IgG	2 indeterminados (p55, p25)
5 VZV IgG	1 indeterminado (leve p55)
5 Toxo IgG	1 indeterminado (p18)

48 muestras resultaron negativas y 14 resultaron indeterminadas: 3 P25, 3P18, 5 P55, 1 P52, 1 P34, 1 P52. Ninguna resultó positiva. Se obtuvieron los mismos resultados tanto con los criterios de interpretación de la OMS como con los del CRSS.

### Sensibilidad en muestras positivas en HIV-1

Se analizaron con el NEW LAV BLOT I 203 muestras que resultaron positivas en HIV-1 con Elisa: 5 con HIV del grupo O, 8 en fase inicial de infección (antígeno o carga viral positivos) y 84 muestras procedentes de distintos países (China, Níger y la India). Según los criterios empleados, se obtuvieron los siguientes resultados:

		CRITERIOS OMS* 2 ENV ± GAG ± POL		CRITERIOS CRSS** 1 ENV + (1 GAG o 1 POL)	
Muestras	Número de Muestras	Indeterminados	Positivos	Indeterminados	Positivos
HIV Positivos	203	8	195	1	202
		4%	96%	0,5%	99,5%

\* Criterios OMS: Organización Mundial de la Salud, \*\* Criterios CRSS: Consortium for Retrovirus Serology Standardization.

### Sensibilidad en muestras positivas en HIV-2

Se analizaron con el NEW LAV BLOT I un total de 101 muestras positivas en HIV-2, de las cuales 6 habían resultado positivas en HIV-1 y HIV-2 con PEPTI-LAV.

		CRITERIOS OMS* 2 ENV ± GAG ± POL		CRITERIOS CRSS** 1 ENV + (1 GAG o 1 POL)	
Muestras	Número de Muestras	Indeterminados	Positivos	Indeterminados	Positivos
HIV Positivos	101	56	45	23	78
		56%	45%	23%	78%

\* Criterios OMS: Organización Mundial de la Salud, \*\* Criterios CRSS: Consortium for Retrovirus Serology Standardization.

### Sensibilidad en paneles de seroconversión

Se analizaron con el NEW LAV BLOT I 55 muestras procedentes de 17 paneles de seroconversión (BBI, NABI y BCP) y 10 muestras de 4 pacientes hospitalizados; es decir, 21 paneles de seroconversión en total.

Muestras	CRITERIOS OMS* 2 ENV ± GAG ± POL			CRITERIOS CRSS** 1 ENV + (1 GAG o 1 POL)		
	Positivos	Indeterminados	Negativos	Positivos	Indeterminados	Negativos
65	2	46	17	37	11	17
	3%	71%	26%	57%	17%	26%

\* Criterios OMS: Organización Mundial de la Salud, \*\* Criterios CRSS: Consortium for Retrovirus Serology Standardization.

En conclusión, el empleo de los criterios del CRSS aumenta la sensibilidad de la prueba con una reducción significativa del número de resultados indeterminados en beneficio de resultados positivos.

### Reproducibilidad

#### • Intraensayo

Se analizaron 6 veces en el mismo ensayo una muestra negativa en HIV y 3 muestras positivas diluidas (2 leves y 1 media). Las interpretaciones se hicieron con los 2 criterios. Se obtuvieron los mismos resultados tanto con los criterios de interpretación (OMS o CRSS).

#### • Interensayo

Se analizaron durante 5 días una muestra negativa en HIV y 6 muestras positivas diluidas (3 leves, 3 medias) y 3 muestras positivas fuertes. Las interpretaciones se hicieron con los 2 criterios. Se obtuvieron los mismos resultados tanto con los criterios de interpretación (OMS o CRSS).

### 13 - LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- La variabilidad de los virus HIV-1 (grupo M, grupo O) y HIV-2 no permite descartar la posibilidad de falsos negativos. Ningún método conocido puede ofrecer garantías de ausencia del virus HIV.
- Durante la primera fase de la infección puede darse el caso de que una prueba de detección dé resultado positivo y la prueba de confirmación dé negativo; por tanto, un resultado negativo indica que la muestra analizada no contiene anticuerpos anti-HIV detectables por el NEW LAV BLOT I. Sin embargo, dicho resultado no permite descartar la posibilidad de una infección reciente por HIV 1 o HIV 2, por lo que se recomienda analizar posteriormente una nueva muestra.
- La presencia de una sola banda ENV para una muestra confirmada como positiva con NEW LAV BLOT I según los criterios del CRSS no excluye la posibilidad de una infección por HIV 2.
- Un resultado indeterminado no permite descartar una seroconversión, infección por HIV-2 o reacción cruzada debida a otros retrovirus.
- Un perfil atípico con leves reacciones en las proteínas de la envoltura (GP 120/ GP 160) en contraste con un positivo claro en las proteínas procedentes de GAG y POL debe hacer pensar en la posibilidad de una infección por un HIV 2 o un HIV 1 del grupo O y necesitará de análisis complementarios.

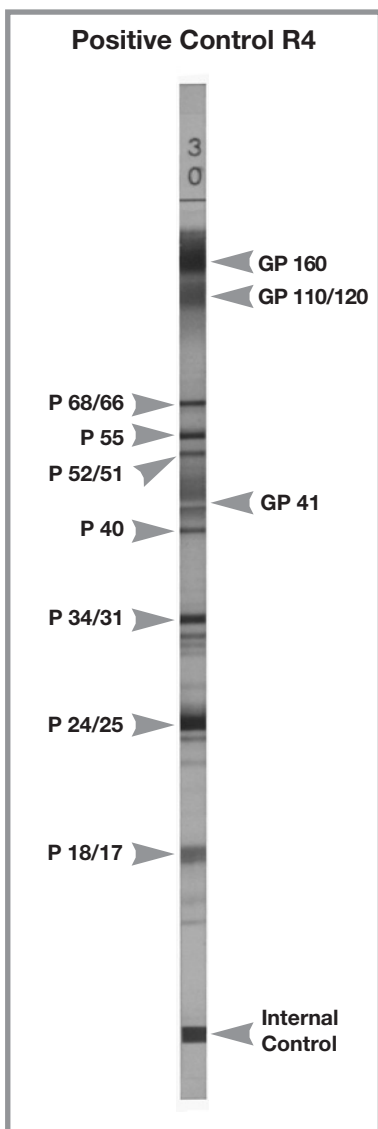
### 14 - BIBLIOGRAFÍA

1. CLAVEL F., BRUN-VEZINET F., GUETARD D. et al. : LAV II - un second rétrovirus associé au SIDA en Afrique de l'Ouest. C.R. Acad. Sc. Paris, 1986, 13, 485-488.
2. CLAVEL F., GUYADER M., GUETARD D. et al. : Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. Nature, 1986, 324, 691 - 695.
3. NEWMARK P. : AIDS in an African context. Nature, 1986, 324, 611.
4. POPOVIC M., SARGADHARAN M.G., READ E., GALLO R.C. : Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and pre - AIDS Science, 1984, 224, 497 - 500.

5. KANKI P.J., BARIN F., M'BOUP S. et al. : New human T-lymphotropic retrovirus related to Simian T - lymphotropic virus type III. (STLV III Agm). *Science*, 1986, 232, 238 - 243.
6. BRUN-VEZINET F., REY M.A., KATLAMA et al. : HIV/LAV2 in AIDS and ARC patients : Clinical and virological studies. *Lancet*.
7. REY F., SALAUN D. LESBORDES J.L. et al. : Evidence for HIV-1 and HIV-2 double infection in Central African Republic. *Lancet*, II, 1986, 1391 - 1392.
8. MOLBAK K., LAURITZEN E., FERNANDES D. et al. : Antibodies to HTLV IV associated with chronic, fatal illness resembling " slim " disease. *Lancet*, II, 1986, 1214 - 1215.
9. BIBERFELD G., BOTTIGER B., BREDBERG - RADEN U. et al. : Findings in fowe HTLV-IV seropositive women from West Africa. *Lancet*, II, 1986 - 1330.
10. ESTEBAN J.I., CHANG - CHIN T., KAY J.W.D. et al. : Importance of Western Blot analysis in predicting infectivity of anti-HTLV III/LAV positive blood. *Lancet*, II, 1985, 1083 - 1086.
11. LAURITZEN E., LINDHARDT B.O. : Antibodies against human immuno-deficiency (HIV) detected by immunoblotting. In BJERRUM O.J., HEEGAARD N.H., eds. : *Handbook of immunoblotting of proteins* CRC Press.
12. TOWBIN H., STAEBLIN T., GORDON J. : Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications. *Proc. Nat. Acad. Scien., USA*, 1979, 76, 4350 - 4353.
13. SOUTHERN E.M. et al. : Detection of specific sequences among DNS fragments separated gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 1975, 98, 503.
14. ARNHEIM N., SOUTHERN E.M. et al. : Heterogeneity of the ribosomal genes in mice and men. *Cell*. 1977, 11, 363.
15. KHYSE - ANDERSEN J. : Electroblotting of multiple gels : a simple apparatus without buffer - tank for rapid transfer of proteins. *J. Biochem. Biophys. Meth.*, 1984, 10, 203 - 209.
16. JOHNSON D.A., GAUTSCH J.W., SPORTMAN J.R., ELDER J.H.T.: Improved technic utilizing non - fat dry milk for analysis of proteins and nucleic acids transfer to nitrocellulose. *Gene. Annals. Tech.*, 1984, 1, 3 - 8.
17. DESJARLIS DC, MARMOR M, COHEN H, et al :Antibodies to a retrovirus etiologically associated with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in populations with increased incidence of the syndrome. *Morbidity Mortality Weekly Rep* 1984, 33 : 377-379.
18. BARRE-SINOUSSE F. CHERMANN J.C., REY F., et al :Isolation of T-lymphotropic retroviruses from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS), *Science* 1983, 220:868-871.
19. GALLO R.C., SALAHUDDIN S.Z., POPOVIC M. et al. :Frequent detection and isolation of cytopathic retrovirus (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS; *Science* 1984, 224:500-503.
20. CLAVEL F. GUETARD D., BRUN-VEZINET F. : Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 1986, 233:343-346.
21. CENTERS FOR DISEASE CONTROL :AIDS due to HIV-2 infection - New Jersey. *Morbidity Mortality Weekly Rep* 1988, 37:33-35.
22. VALKIRS G.E., BARTON R. : Immunoconcentration® - A new format for solid phase immunoassays *Clin. Chem.* 1985, 31 : 1427-1431, 1985.
23. RESNICK L., VEREN K., SALAHUDDIN S.Z., et al. :Stability and inactivation of HTLV-III/LAV under clinical and laboratory environments. *JAMA* 1986, 255 : 1887-1891.
24. BOND W.W., FAVERO M.S., PETERSEN N.J., et al. :Inactivation of hepatitis B virus by intermediate to high level disinfectant chemicals. *J. Clin. Micro.* 1983, 18 : 535-538.
25. WHO (World Health Organisation) weekly epidemiological record 1990, 37 Page 281-283.

## Ejemplo de valor obtenido para el Control Positivo R4

**Atención :** las bandas obtenidas realmente pueden ser diferentes de las que figuran en esta imagen. No utilice esta imagen para la interpretación final. Utilice las tiras de control positivo para identificar los anticuerpos del paciente. La banda de control interno debe estar presente en cada tira.



**CE**

(GB) - CE marking (European directive 98/79/CE on *in vitro* diagnostic medical devices)  
 (FR) - Marquage CE (Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*)  
 (ES) - Marcado CE (Directiva europea 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*)  
 (IT) - Marchiatura CE (Direttiva europea 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*)  
 (DE) - CE Konformitätskennzeichnung (Europäische Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika)  
 (PT) - Marcação CE (Directiva europeia 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*)  
 (SE) - CE-märkning (Europeiskt direktiv 98/79/EG om medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik)  
 (DK) - CE-mærkningen (Europa direktiv 98/79/EF om medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik)  
 (GR) - Χαρακτηρισμός CE (ευρωπαϊκή οδηγία 98/79/CE περί *in vitro* διαγνωστικών ιατρικών συσκευών)  
 (PL) - CE oznaczenie (Dyrektywa unijna 98/79/CE dotycząca produktów medycznych do badań *in vitro*)  
 (LT) - CE ženklas (Europos sąjungos direktyva 98/79/CE dėl *in vitro* diagnostikos medicinos prietaisų)  
 (HU) - CE jelzés (98/79/CE Európai Irányelv az *in vitro* orvosi diagnosztikai eszközökről)  
 (EE) - CE märgistus (Euroopa direktiiv 98/79/CE *in vitro* diagnostikameditsiiniseadmete kohta)  
 (SK) - CE označenie o zhode (Európska direktíva 98/79/CE pre *in vitro* diagnostické zdravotnícke postupy)  
 (CZ) - CE značka (Evropská direktiva 98/79/CE o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro*)  
 (NO) - CE-merking (EU-direktiv 98/79/CE om medisinsk utstyr til *in vitro*-diagnostikk)  
 (RO) - Marca CE (Directiva europeană 98/79/CE pentru dispozitive medicale de diagnostic *in vitro*)  
 (BG) - CE маркировка (Европейска директива 98/79/CE за *ин vitro* диагностичните медицински изделия)

**IVD**

(GB) - For *in vitro* diagnostic use  
 (FR) - Pour diagnostic *in vitro*  
 (ES) - Para diagnóstico *in vitro*  
 (IT) - Per uso diagnostico *in vitro*  
 (DE) - *In-vitro*-Diagnostikum  
 (PT) - Para uso em diagnóstico *in vitro*  
 (SE) - *In vitro*-diagnostik  
 (DK) - *In vitro* diagnose  
 (GR) - Για *in vitro* διαγνωστική χρήση  
 (PL) - Do stosowania *in vitro*  
 (LT) - *in vitro* diagnostikai  
 (HU) - Csak *in vitro* diagnosztikai alkalmazásra  
 (EE) - *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks  
 (SK) - Na diagnostiku *in vitro*  
 (CZ) - Pro diagnostiku *in vitro*  
 (NO) - Til *in vitro*-diagnostikk  
 (RO) - Pentru diagnostic *in vitro*  
 (BG) - За *ин vitro* диагностика

**REF**

(GB) - Catalogue number  
 (FR) - Référence catalogue  
 (ES) - Número de catálogo  
 (IT) - Numero di catalogo  
 (DE) - Bestellnummer  
 (PT) - Número de catálogo  
 (SE) - Katalognummer  
 (DK) - Katalognummer  
 (GR) - Αριθμός καταλόγου  
 (PL) - Numer katalogu  
 (LT) - Katalogo numeris  
 (HU) - Cikkszám  
 (EE) - Kataloognumber  
 (SK) - Katalogové číslo  
 (CZ) - Katalogové číslo  
 (NO) - Katalognummer  
 (RO) - Număr de catalog  
 (BG) - Каталоген номер



(GB) - Manufacturer  
 (FR) - Fabricant  
 (ES) - Fabricante  
 (IT) - Produttore  
 (DE) - Hersteller  
 (PT) - Fabricante  
 (SE) - Tillverkad av  
 (DK) - Fremstillet af  
 (GR) - Κατασκευαστής  
 (PL) - Producent  
 (LT) - Gamintojas  
 (HU) - Gyártó  
 (EE) - Tootja  
 (SK) - Výrobca  
 (CZ) - Výrobce  
 (NO) - Produsent  
 (RO) - Producător  
 (BG) - Производител

**EC REP**

(GB) - Authorised Representative  
 (FR) - Représentant agréé  
 (ES) - Representante autorizado  
 (IT) - Distributore autorizzato  
 (DE) - Bevollmächtigter  
 (PT) - Representante Autorizado  
 (SE) - Auktoriserad representant  
 (DK) - Autoriseret repræsentant  
 (GR) - Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος  
 (PL) - Uprawniony Przedstawiciel  
 (LT) - Įgaliojatis atstovas  
 (HU) - Meghatalmazott Képviselő  
 (EE) - Volitatud esindaja  
 (SK) - Autorizovaný zástupca  
 (CZ) - Zplnomocněný zástupce  
 (NO) - Autorisert representant  
 (RO) - Reprezentant autorizat  
 (BG) - Упълномощен представител

**LOT**

(GB) - Batch code  
 (FR) - Code du lot  
 (ES) - Código de lote  
 (IT) - Codice del lotto  
 (DE) - Chargen-Bezeichnung  
 (PT) - Código do lote  
 (SE) - Batchnr  
 (DK) - Batchkoden  
 (GR) - Κωδικός παρτίδας  
 (PL) - Numer serii  
 (LT) - Serijos numeris  
 (HU) - Gyártási szám  
 (EE) - Partii kood  
 (SK) - Číslo šarže  
 (CZ) - Číslo šarže  
 (NO) - Partikode  
 (RO) - Număr de lot  
 (BG) - Партиден номер



(GB) - Expiry date YYYY/MM/DD  
 (FR) - Date de peremption AAAA/MM/JJ  
 (ES) - Estable hasta AAAA/MM/DD  
 (IT) - Da utilizzare prima del AAAA/MM/GG  
 (DE) - Verwendbar bis JJJJ/MM/TT  
 (PT) - Data de expiração AAAA/MM/DD  
 (SE) - Utgångsdatum ÅÅÅÅ/MM/DD  
 (DK) - Anvendes før ÅÅÅÅ/MM/DD  
 (GR) - Ημερομηνία λήξης YYYY/MM/DD  
 (PL) - Data ważności YYYY/MM/DD  
 (LT) - Galioja iki YYYY/MM/DD  
 (HU) - Szavatossági idő ÉÉÉÉ/HH/NN  
 (EE) - Aegumistähtaeg AAAA/KK/PP  
 (SK) - Použitelné do RRRR/MM/DD  
 (CZ) - Datum expirace RRRR/MM/DD  
 (NO) - Utløpsdato ÅÅÅÅ/MM/DD  
 (RO) - Data expirării AAAA/LL/ZZ  
 (BG) - Срок на годност година/месец/ден



- (GB)** - Storage temperature limitation
- (FR)** - Limites de températures de stockage
- (ES)** - Temperatura límite
- (IT)** - Limiti di temperatura di conservazione
- (DE)** - Lagertemperatur
- (PT)** - Limites de temperatura de armazenamento
- (SE)** - Temperaturbegränsning
- (DK)** - Temperaturbegrænsning
- (GR)** - Περιορισμός θερμοκρασίας αποθήκευσης
- (PL)** - Temperatura przechowywania
- (LT)** - Saugojimo temperatūriniai apribojimai
- (HU)** - Tárolási hőmérsékleti határok
- (EE)** - Piirangud säilitustemperatuurile
- (SK)** - Skladovacia teplota od do
- (CZ)** - Teplotní rozmezí od do
- (NO)** - Oppbevaringstemperatur
- (RO)** - Limitele de temperatură la stocare
- (BG)** - Температурни граници на съхранение



- (GB)** - Consult Instruction for use
- (FR)** - Consulter le mode d'emploi
- (ES)** - Consultare las instrucciones de uso
- (IT)** - Consultare le istruzioni per uso
- (DE)** - Siehe Gebrauchsanweisung
- (PT)** - Consulte o folheto informativo
- (SE)** - Se bruksanvisningen
- (DK)** - Se instruktion for brug
- (GR)** - Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης
- (PL)** - Sprawdź instrukcję
- (LT)** - Ieškokite informacijos vartojimo instrukcijoje
- (HU)** - Olvassa el a használati utasítást
- (EE)** - Kasutamisel vaata instruksiooni
- (SK)** - Katalógové číslo
- (CZ)** - Viz návod k použití
- (NO)** - Se bruksanvisninger
- (RO)** - Consultati prospectul de utilizare
- (BG)** - Виж инструкцията за употреба



**Bio-Rad**  
3, bd Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette - France  
Tél.: +33 1 47 95 60 00  
Fax.: +33 1 47 41 91 33



01/2009  
Code: 883572