

Prueba inmunocromatográfica Cualitativa para la detección de Anticuerpos para los Tipos de Virus de Inmunodeficiencia Humana 1 y 2 (HIV-1 y HIV-2), así como HIV-1 Tipo 0, en Suero o plasma Humano

USO PREVISTO

La prueba rápida de HIV 1&2 es un inmunoensayo rápido de un solo uso basado en inmunocromatografía. Emplea reactivos únicos para la detección rápida y confiable de anticuerpos al HIV-1 y HIV-2 en suero y plasma humana, sin instrumentación.

INTRODUCCIÓN

El Virus de inmunodeficiencia humana (HIV) es un retrovirus, identificado en 1983 como el agente etiológico para el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El virus del HIV consiste en una molécula de RNA genómica asociada con una transcriptasa inversa (TR), protegida por una cápside y un cubierta ensobrecida. Se han distinguido dos tipos, HIV-1 y HIV-2.

Las rutas principales de transmisión del HIV son el contacto sexual, contaminación con sangre o productos sanguíneos y transmisión de la madre a recién nacido, el HIV afecta principalmente a los linfocitos CD4. La disminución progresiva del nivel de CD4 durante el desarrollo de la enfermedad facilita las infecciones oportunistas con consecuencias fatales. La prueba en suero de anticuerpos del VIH es actualmente el método más común de la detección de la infección

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Las proteínas recombinantes que representan las regiones inmunodominantes de las proteínas *envoltura* y *gag* de HIV-1 y HIV-2 son inmovilizadas en la región de prueba de la tira de nitrocelulosa y un agente bioquímico que reconoce anticuerpos humanos es dispersado en la región de control de la tira. Las proteínas de HIV-1 y HIV-2, unidas a oro coloidal, son impregnadas por debajo de la región de prueba del dispositivo. Una banda estrecha de la membrana de nitrocelulosa es también sensibilizada como región de control.

Se da inicio a la prueba aplicando la muestra al puerto de muestras del dispositivo de pruebas (ver Figura 1). Posteriormente se aplican dos gotas de reactivo de lavado que facilitan el flujo de la muestra dentro del dispositivo y sobre la tira reactiva. Los anticuerpos específicos a las proteínas HIV-1 o HIV-2 reaccionarán con las partículas conjugadas del oro coloidal.

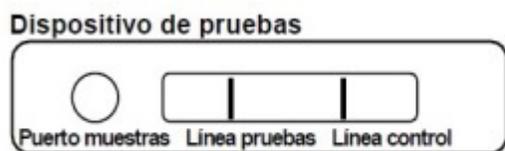


Figura 1.

Los complejos de la proteína-anticuerpo de oro coloidal HIV se desplazan por cromatografía a lo largo de la membrana de nitrocelulosa hacia las regiones de Prueba y Control del dispositivo de prueba.

Se indica una reacción positiva mediante la presencia de dos bandas de color: una banda de color de rosa/roja en la zona de prueba (marcado

por T) y una segunda banda roja en la región de control del dispositivo (marcada por C).

Una reacción negativa, está indicando la ausencia de anticuerpos humanos contra HIV resulta en sólo una banda roja visible en la región de Control del dispositivo.

La aparición de la banda de Control indica la correcta realización de la prueba.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba

- 20 ó 100 Dispositivos de Prueba Rápida de HIV 1&2. Cada dispositivo de prueba contiene una banda de prueba que consta de una almohadilla de prueba, una almohadilla dorada impregnada con un conjugado de proteína HIV y oro coloidal, una tira de nitrocelulosa con proteínas recombinantes VIH inmovilizadas como línea de Prueba y un reactivo vinculante de anticuerpos como línea de Control, un material absorbente para facilitar el flujo a través del dispositivo.
- 1 Botella cuentagotas de reactivo de lavado (10 mL).
- Instructivo

Materiales requeridos pero no abastecidos

- Pipeta de precisión con puntas desechables para dispensar 10 µL.
- Temporizador o cronómetro.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los dispositivos de prueba y la solución de lavado puede almacenarse entre 2 y 30°C. Después del primer uso, el Reactivo de Lavado debe ser almacenado a 2-30°C. No deben usarse componentes del estuche después de su fecha de caducidad.

SEGURIDAD Y PRECAUCIONES

- Para el uso de diagnóstico *In vitro* solamente.
- No fumar, comer o beber en zonas en las que se manejen muestras.
- Usar guantes quirúrgicos y prendas de laboratorio. Seguir procedimientos de laboratorio aceptados para trabajar con suero o plasma humanos.
- Deshacerse de todas las muestras, Dispositivos de Reacción utilizados y otros materiales usados con el estuche como desechos biológicamente peligrosos.
- Todo derrame debería limpiarse cuidadosamente con un desinfectante adecuado como una solución de hipoclorito sódico.
- No mezclar reactivos y dispositivos de diferentes lotes.
- No usar el estuche después de la fecha de caducidad.

MANEJO DE MUESTRAS

Pueden realizarse las pruebas en suero o plasma. Las muestras pueden almacenarse durante 7 días entre 2° y 8°C antes de realizar las pruebas. Para almacenar por un período superior a los 7 días, congelar la muestra a -20°C. Después de descongelar, las muestras deben ser mezcladas. Evítense congelaciones y descongelaciones reiteradas.



PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

PREPARACIÓN DE LA PRUEBA

- Leer con mucha atención todas las instrucciones de la prueba antes de iniciarla.
- Poner las muestras (así como los reactivos de lavado y los dispositivos, si están refrigerados) a temperatura ambiente (15-30°C).
- Sacar el número requerido de dispositivos de Prueba Rápida de HIV 1&2 de su empaque de aluminio.
- Realizar la prueba a temperatura ambiente (15-30°C).

INSTRUCCIONES DE LA PRUEBA

SUERO O PLASMA

1. Usando una pipeta de precisión con puntas desechables, aplicar con cuidado 10 µl de la muestra al Puerto de muestras. Descartar la punta de la pipeta como deshecho biológicamente peligroso.
2. Inmediatamente después, añadir 2 gotas (aprox. 70 µL) de reactivo de lavado al Puerto de Muestras.
3. Realizar la prueba a temperatura ambiente (15-30°C).
4. Deben leerse los resultados al finalizar el período de incubación de 15 minutos. Los resultados son estables durante 10 minutos más (25 minutos después de aplicar la muestra).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

VALIDACIÓN

Para confirmar el funcionamiento adecuado de la prueba y demostrar que los resultados son válidos, la línea de control debe aparecer en todos los dispositivos (Ver Figura 2, a, b).

Si falta la línea de control Interno (ver Figura 2, c, d) el resultado deberá considerarse inválido y deberá repetirse la prueba.

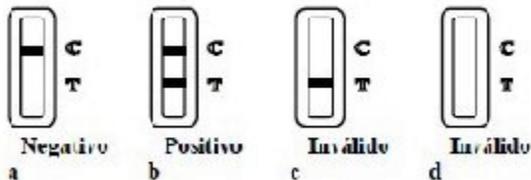


Figura 2

IMPORTANTE

Cualquier línea débilmente coloreada de la prueba debe ser sospechosa para representar una reacción positiva y debe ser investigada más.

LIMITACIONES

1. El procedimiento e interpretación de resultados de **Prueba Rápida de HIV 1&2** deben ser seguidos de cerca cuando se esté ensayando para la presencia de anticuerpos anti-HIV en suero y plasma.
2. El Dispositivo de **Prueba Rápida de HIV 1&2** es un ensayo de tamizado. Puesto que la producción de anticuerpos al HIV puede retrasarse después de la exposición inicial, la no reactividad con esta prueba no debe ser considerado evidencia concluyente de que el paciente no se ha expuesto o a infectados por HIV.
3. La Prueba Rápida de HIV 1&2 está diseñado para las pruebas de muestras no diluidas. Las muestras no deben diluirse antes de la prueba.
4. Pacientes Inmunosuprimidos o individuos inmunocomprometidos infectados con HIV-1 o HIV-2 no pueden producir anticuerpos contra el virus. Probar con cualquier equipo diseñado para detectar anticuerpos, pueden dar resultados negativos y no sería un método confiable de la prueba para estos pacientes.
5. Los bebés pueden recibir anticuerpos de una madre infectada o no

pueden producir anticuerpos en respuesta a una infección. Por lo tanto, es necesario tener gran cuidado en la interpretación de sus resultados.

6. El SIDA y el ARC (Complejo Relacionado al SIDA) son síndromes clínicos y su diagnóstico sólo puede establecerse clínicamente. Los resultados de la **Prueba Rápida de HIV 1&2** no pueden usarse por sí solos para diagnosticar el SIDA. Un resultado negativo no descarta la posibilidad de exposición a HIV o infección con el HIV.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

A) Estudios en Múltiples Centros

Un estudio en múltiples centros fue realizado en 6 lugares: Francia, Israel, Mozambique, Nigeria, Brasil y Venezuela en 1285 pacientes infectados, incluyendo HIV-1, HIV-2 y co-infección, así como 2518 donantes de sangre HIV negativos. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

TABLA 1: Estudio en multiples centros

País	Año	Total de muestras	Positivo	Negativo
Francia	2002	627	426	201
Israel	2002	688	388	300
Mozambique	2002	682	132	550
Nigeria	2002	30	15	15
Brazil	2003	1430	174	1256
Israel	2003	246	100	146
Venezuela	2003	100	50	50
TOTAL	/	3803	1285	2518

Las siguientes características de desempeño fueron calculadas:

- Sensitividad – 99.9%
- Especificidad – 99.6%

B) Seroconversión

La capacidad de **Prueba Rápida de HIV 1&2** para detectar seroconversión temprana de HIV-1 fue evaluada en muestras de suero recolectadas de 11 pacientes con fase documentada de seroconversión HIV-1 y en tres paneles comerciales de seroconversión (BioClinical Partners, Estados Unidos; NABI, Estados Unidos) con Western blot como la prueba de referencia. La detección de seroconversión de la **Prueba Rápida de HIV 1&2** precedió la detección por la prueba de Western blot en un promedio de 7 días.

C) HIV – 1 Tipo O

La capacidad de la prueba **Prueba Rápida de HIV 1&2** para detectar HIV-1 tipo O fue evaluada en muestras de Camerún. Fue detectado el HIV -1 tipo O - positivo.

REFERENCIAS

1. Barré-Sinoussi F., Chermann J.C., Rey F., et al. 1983. Isolation of T. lymphotropic retrovirus from patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* 224:497-500.
2. Constantine NT. 1999. HIV antibody testing, p. 105-112. In P.T. Cohen, M.A.

-
- Sande, and P.A. Volberding (ed.), *The AIDS knowledge base*, 3rd ed. Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.
3. Gilmore, N. 1996. *Blood and blood product safety*, p. 287-301. In J. Mann and D. Tarantola (ed.), *AIDS in the World*, vol II. Oxford University Press, Oxford, England.
 4. Grant AD, De Cock KM. 2001. *HIV infection and AIDS in the developing world*. *British Med. Journal*, 322: 1475- 1478.
 5. Janssen RS et al. 1998. *New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes*. *JAMA* 280:42-48.
 6. Schacer TW, Hugu JP, Shea T, et al. 1998. *Biological and virological characteristics of primary HIV infection*. *Ann. Intern. Med.* 128: 613-620.
 7. UNAIDS/WHO. 1997. *Working Group on Global HIV/AIDS and STD Surveillance. Report on the Global HIV/AIDS Epidemic*, p. 1-13. Geneva

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:
ORGENICS LTD
P.O.B. 360,
YAVNE 70650, ISRAEL