

HIV 1- 2 Ac (Suero/Plasma/Sangre)

TIPO DE ENSAYO	Cualitativo
MUESTRA	Suero/Plasma/Sangre
SENSIBILIDAD	99.9 %
ESPECIFICIDAD	99.9 %
METODO	Inmunocromatográfico
PRESENTACION	Casete

INTRODUCCION

El dispositivo HIV 1- 2-Ac permite mediante un ensayo Inmunocromatográfico la determinación visual cualitativa en un solo paso de la presencia de Anticuerpos contra el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) tipo 1 y tipo 2 en sangre total, sangre capilar, suero o plasma, como ayuda en el diagnóstico de la infección por VIH. Antígenos purificados recombinantes son utilizados para identificar específicamente los Anticuerpos IgG, IgM, IgA contra el VIH1, VIH2, con alta sensibilidad. Los resultados de la prueba son rápidos y fáciles de interpretar de manera visual y no se requiere de instrumentación o reactivos adicionales. Los resultados reactivos deben ser confirmados con ELISA o PCR.

RESUMEN

El HIV es el agente etiológico del SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida). El virus es esférico, dotado de una envoltura lipídica derivada de la célula hospedera y una cápside proteica. Su genoma es una cadena de ARN monocatenario que debe copiarse provisionalmente a ADN para poder multiplicarse e integrarse en el genoma de la célula que infecta. Los antígenos proteicos de la envoltura exterior se acoplan de forma específica con proteínas de la membrana de las células infectables, especialmente de los linfocitos T4.

Hay dos tipos conocidos de VIH: VIH 1 y VIH 2. El **VIH 1** es el virus predominante, se caracteriza por ser muy variable genéticamente por lo que ha sido clasificado en grupos y subtipos. Existen tres principales grupos del Virus tipo VIH 1: el grupo "M" comprende la mayoría de subtipos que se han distribuido por el mundo y que producen la enfermedad; el grupo "O", se encuentra principalmente en Camerún y la línea Ecuatorial y, un grupo recientemente identificado, el grupo "N", se ha encontrado en muy contados casos en Camerún. El **VIH 2** en la actualidad se encuentra fundamentalmente al este de África, los casos registrados en otros lugares del mundo corresponden a inmigrantes africanos, o personas que han mantenido relaciones sexuales con sujetos de la región. Se diferencia del VIH tipo 1 por tener un periodo de latencia más prolongado y ser menos virulento (da mayores expectativas de vida y supervivencia al infectado) pero al mismo tiempo presenta menor respuesta al tratamiento convencional.

El VIH1 se ha dividido en 3 grupos: el grupo M, grupo O y grupo N. El VIH2 se ha clasificado en 5 subtipos de la (A – E).

En la actualidad no hay un conocimiento exacto del tiempo en que aparecen los Anticuerpos después del contagio con el VIH. Luego de un periodo de incubación de semanas o meses, el VIH origina Anticuerpos específicos. El primero en aparecer es el Anti p 24 como respuesta a la proteína p 24 base estructural de la envoltura del Virus, diferente en el VIH 1 y VIH 2. Luego aparecen Anticuerpos contra las proteínas del núcleo que se denominan gp 160, gp 120 y gp 41.

La manifestación clínica del VIH en los seres humanos es lenta y varía de individuo a individuo por lo que la detección de Anticuerpos contra el VIH es de rigor en toda persona con posibilidades teóricas de adquirirlo.

PRINCIPIO

El HIV 1-2 es una prueba rápida de inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El cassette de prueba consta de: 1) plataforma de Ag recombinante HIV 1 Y HIV2 conjugado con oro coloidal y una Ig G de conejo conjugado con oro coloidal. 2) Membrana de nitrocelulosa, con 2 bandas de prueba (HIV1-2) y un control C. 3) Las bandas tienen AgHIV1 y AgHIV2 para detectar A cHIV1 y Ac HIV2 y la banda C está cubierta de Ac de conejo tipo anti Ig G.

Al colocar la muestra del paciente, esta migra por capilaridad a través de la membrana. Si hay Ac HIV1 en la muestra se unen con el AgHIV1 conjugado, formando una banda de color en la región 1, esto indica un resultado Reactivo o Positivo. La ausencia de esta banda indica un resultado No Reactivo o Negativo. Esto mismo ocurre con el AcHIV2 cuando se une con el Ag HIV2 conjugado, donde se forma una banda de color en la región 2, indicando un resultado Reactivo o Positivo, sino existe esta banda el resultado es No Reactivo o Negativo para HIV2.

MATERIALES SUMINISTRADOS

- > Dispositivo de **HIV 1-2 Ac**
- > Gotero
- > Desecante
- > Buffer (diluyente)

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

- > Reloj o Timer
- > Elementos para obtención y almacenamiento de la muestra de sangre o suero o plasma

OBTENCION DE LA MUESTRA

Toda muestra debe ser manipulada con la suficiente precaución como si fuera potencial infecciosa

La prueba **HIV 1-2 Ac** puede realizarse utilizando sangre total (obtenida por venopunción o punción dactilar), suero o plasma.

Para muestra de sangre total, suero o plasma tomadas por venopunción: una vez desinfectada el área, la muestra debe tomarse mediante venopunción siguiendo el procedimiento establecido por el laboratorio, recolectarse en un recipiente con o sin anticoagulante de acuerdo al caso y manejarse con precaución según los procedimientos utilizados en el laboratorio. Se recomienda separar el suero o el plasma de la sangre lo más pronto posible con el fin de evitar la hemólisis

Para muestras tomadas por punción dactilar: hacer un breve masaje en los dedos anular y medio en dirección a la punta de los dedos, elegir el dedo en el cual se va a realizar la punción y desinfectar el área, dejar secar, y realizar la punción utilizando una lanceta estéril, desechar la primera gota de sangre y continuar realizando masaje en el dedo sin tocar el área de la punción, cuando se forme una nueva gota de sangre tome la muestra con el gotero suministrado.

- La muestra puede tomarse en cualquier momento (no se requiere que el paciente esté en ayunas).
- La muestra debe ser analizada preferiblemente el mismo día de su recolección. Si esto no es posible consérvela en refrigeración (máximo 3 días) o congelación (- 20 °C hasta 30 días). No congele y descongele repetidamente la muestra porque podría afectar el resultado del ensayo.
- Remueva del Suero / Plasma cualquier sedimento mediante centrifugación.
- No utilice muestras turbias ya que pueden estar contaminadas por microorganismos, ni hemolizadas porque pueden alterar el resultado.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

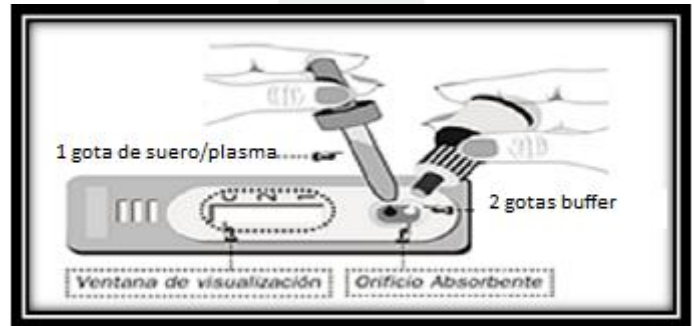
Lleve a temperatura ambiente los reactivos y las muestras.

Retire el casete del empaque de aluminio, colóquelo sobre una superficie limpia y plana e identifíquelo según los procedimientos de su laboratorio.

Prueba con Suero / Plasma

Llene el gotero pipeta con la muestra. Sosteniendo el gotero verticalmente, dispensar 1 gota (aproximadamente. 20 µl) de la muestra en el pozo de reacción asegúrese de que no hay formación de burbujas de aire.

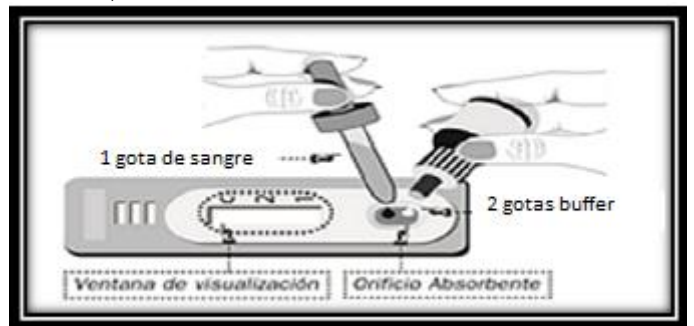
A continuación, añada 2 gotas (aproximadamente. 40 µl) del buffer sobre la muestra, de forma inmediata.



Prueba con Sangre total

Llene el gotero pipeta con la muestra. Sosteniendo el gotero verticalmente, dispensar de 1 gota (20 µl aproximadamente) de sangre en el pozo de reacción asegúrese de que no hay formación burbujas.

A continuación, añada 2 gotas (aproximadamente 80µl) del buffer sobre la muestra, de forma inmediata.



Realice la lectura a los 15 minutos no intérprete los resultados después de 20 minutos

NOTA: Preferiblemente dispensar las muestras con pipeta automática, para asegurar la medida exacta.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

Lea el resultado de la prueba a los 10 minutos exactos después de agregar el buffer. Interprete los resultados en un área bien iluminada.

No lea los resultados después de 20 minutos.

Resultados Reactivos - Positivos:

- 1. Aparecen dos bandas de color, una en la región de control (C) y otra en la región de prueba (T1); La intensidad de color de la banda de prueba (T1) puede variar, aún la presencia de una línea de intensidad muy débil debe ser considerada positiva. **El resultado positivo indica que se detectaron Anticuerpos contra HIV 1 en la muestra.**



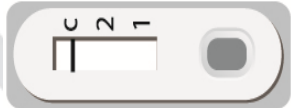
2. Aparecen dos bandas de color, una en la región de control (C) y otra en la región de prueba (T2); La intensidad de color de la banda de prueba (T2) puede variar, aún la presencia de una línea de intensidad muy débil debe ser considerada positiva. **El resultado positivo indica que se detectaron Anticuerpos contra HIV 2 en la muestra.**



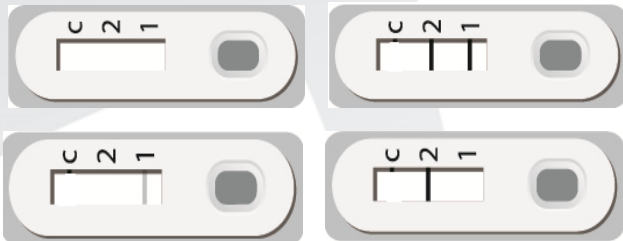
3. Aparecen tres bandas de color, una en la región de control (C) y otra en la región de prueba (T1) y (T2); La intensidad de color de las bandas de prueba (T1) y (T2) puede variar, aún la presencia de una línea de intensidad muy débil debe ser considerada positiva. **El resultado positivo indica que se detectaron Anticuerpos contra HIV 1 y HIV2 en la muestra.**



- **Resultados No Reactivos - Negativo:** Aparece únicamente una banda de color en la región de control (C). No hay una banda visible en la región de prueba (T). **El resultado negativo indica que no se detectaron Anticuerpos contra HIV 1 - 2 en la muestra.**



- **Prueba Inválida:** No se visualiza bandas en absoluto o aparece una banda de color en la región de prueba (T) pero ninguna banda de color en la región de control (C). Repita el procedimiento utilizando un nuevo Cassette.



LIMITACIONES DEL ENSAYO

El dispositivo HIV 1- 2 Ac (sangre /suero/plasma) indica únicamente la presencia de anticuerpos anti HIV 1-2 en la muestra y no debe ser usado como único diagnóstico del SIDA. Se recomienda confirmar los resultados reactivos o positivos con técnicas como ELISA y/o Western Blot. Todos los resultados deben ser valorados con información clínica y criterio médico.

Un resultado No reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos HIV1 y HIV2 están por debajo del límite de detección del ensayo o los anticuerpos que detecta la prueba no están presentes durante la etapa de la enfermedad en que la muestra se recogió.

Cuando se obtiene un resultado positivo o reactivo como se ilustra en el numeral 3, donde se evidencian las 3 bandas: C, 1, 2, esto puede ocurrir cuando se obtiene un título alto HIV1. Para diferenciar la reactividad cruzada: diluir la muestra de prueba con diluyente de muestras a 1:50 o la dilución de 1:100, a continuación, volver a probar la muestra diluida con un nuevo dispositivo de prueba. Sólo una banda y C aparecerán si se trata de un VIH-1. Si es 1, 2 y banda C todo aparece, la prueba indica que hay Anticuerpos VIH-1 y VIH-2.

La intensidad del color da la banda no se correlaciona con el título de anticuerpos de la muestra.

Algunas muestras que contienen título alto de anticuerpos halterófilos o el factor reumatoide puede afectar a los resultados esperados.

Los resultados obtenidos con esta prueba sólo deben ser interpretados en Conjunto con otros procedimientos de diagnóstico y los hallazgos clínicos.

Si el resultado es negativo o no reactivo y los síntomas clínicos persisten se recomienda confirmar con otros métodos de análisis. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por el virus.

CONTROL DE CALIDAD La región de control (C) es el control interno del dispositivo que permite confirmar que el volumen de muestras utilizado en el ensayo ha sido el adecuado y el procedimiento ha sido realizado de manera correcta.

Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan verificar cada cierto tiempo que los componentes de los dispositivos de diagnóstico operan correctamente utilizando materiales de control diseñados para este fin. Utilícelos de manera similar a una muestra.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los dispositivos de **HIV 1-2 Ac** deben permanecer hasta la fecha de vencimiento en sus respectivos empaques de aluminio sin abrir, refrigerados o a temperatura ambiente (2°C a 30°C), alejados de la luz solar directa, la humedad y el calor excesivo. La exposición del dispositivo de diagnóstico a temperaturas mayores a 30°C, puede reducir la vida media del producto u ocasionar el daño definitivo del mismo.

PRECAUCIONES

Se debe leer y seguir cuidadosamente las instrucciones del procedimiento de ensayo con el objeto de realizarlo en forma correcta.

Todos los materiales utilizados durante el ensayo deben considerarse como potencialmente infeccioso. Manipúlelos y deséchelos de acuerdo con las normas vigentes.

Exclusivamente para diagnóstico **IN VITRO** y para ser usados por profesionales.

No utilice el dispositivo de diagnóstico después de la fecha de vencimiento indicada en el empaque de Aluminio.

No reutilice ninguno de los elementos del dispositivo de diagnóstico.

El dispositivo de diagnóstico **HIV 1 - 2 Ac** está diseñado para detectar la presencia de Anticuerpos HIV en muestras de sangre total, suero o plasma. El análisis en otras secreciones corporales no ha sido validado y puede no arrojar resultados correctos.

Evite humedecer el área de la ventana de visualización de resultados.

Preferiblemente hacer la medición de la muestra con pipeta automática.

CRITERIOS DE DESEMPEÑO

Sensibilidad y Especificidad

Los estudios realizados internamente demuestran que la sensibilidad del dispositivo de diagnóstico **HIV 1 - 2 Ac** es sustancialmente equivalente a la prueba EIA y de Western Blot al examinarse en paneles de funcionamiento. Se tomaron 1000 pacientes los cuales eran susceptibles y se probaron con HIV 1-2 y se compararon con EIA obteniéndose los siguientes resultados: sensibilidad del 99.9 % y especificidad del 99.9 %.

Rendimiento de la Prueba VIH1

EIA	HIV-1/2 Ab Plus Combo Rapid Test		Total
	Positive	Negative	
Positive	20	0	20
Negative	0	980	980
Total	20	980	1000

Rendimiento de la Prueba VIH2

EIA	HIV-1/2 Ab Plus Combo Rapid Test		Total
	Positive	Negative	
Positive	20	0	20
Negative	0	175	175
Total	20	175	195

BIBLIOGRAFIA

- Essex, M. (1999) Human immunodeficiency viruses in the developing world. *Adv Virus Res* 53: 71-88.
- Kanki, P.J., Hopper, J.R. and Essex, M. (1987). The origins of HIV-1 and HTLV-4/HIV/2. *Ann N Y Acad Sci* 511 : 370-375.
- Nicoll, A., Gill, O.N. (1999) The global impact of HIV infection and disease. *Commun Dis Publ Health* 2 : 85-95.
- Valdiserri R.O., Holtgrave, D.R., West, G.R. (1999) Promoting early diagnosis and entry into care. *AIDS* 13 : 2317-2330.

COD ALL