Prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24)

(sangre total/capilar, suero o plasma)
VPC 0125/01
REF DMVIH02

Uso deseado

La prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24) (sangre total/capilar, suero o plasma) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos contra VIH tipo 1, VIH tipo 2 y el antígeno p24 del VIH-1 en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma como auxiliar en la detección de la infección por VIH.

Resumen

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ataca el sistema inmunitario y debilita los sistemas de defensa contra las infecciones y determinados tipos de cáncer. A medida que el virus destruye las células inmunitarias e impide el normal funcionamiento de la inmunidad, la persona va cayendo gradualmente en una situación de inmunodeficiencia [1,2]. La infección por VIH es un proceso crónico que implica la producción elevada y constante de nuevos viriones, acompañada de la destrucción de linfocitos CD4+ (efecto citopático). Esta destrucción celular es compensada durante varios años, hasta que las reservas corporales se agotan, lo que desemboca en una depleción de linfocitos, que son las células coordinadoras de la respuesta inmune, razón por la cual se produce una inmunodeficiencia adquirida [2,3].
El VIH tipo 1 y tipo 2, tienen de 40 a 60% de homología en secuencia de aminoácidos, pero se distinguen claramente desde el punto de vista epidemiológico, ya que el tipo 1 está diseminado en todo el mundo y es el responsable de la mayoría de las infecciones por VIH, el tipo 2 se encuentra principalmente restringido a África Oeste y países colindantes. El VIH posee una enzima denominada transcriptasa reversa que es básica para crear DNA del RNA viral, el VIH tipo 1 cuenta con una estructura icosahédrica que contiene 72 glicoproteínas cubiertas por una capa lipídica. Cada partícula viral está compuesta de dos copias idénticas de RNA de una sola cadena, el cual se encuentra empacado en la cápside [2].
La sintomatología generalmente se presenta de dos a cuatro semanas después de la adquisición de la infección, pero a veces el periodo de incubación puede ser hasta de 10 meses y en el caso del VIH-2 pueden ser años. Las principales manifestaciones son: fiebre, crecimiento ganglionar, faringitis, erupción maculopapular en cara y tronco, ulceraciones en mucosas, mialgias, artralgias y linfopenia. La fase más avanzada de la infección por el VIH es el Síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA que, en función de la persona, puede tardar de 2 a 15 años en manifestarse [1,2].
Las pruebas serológicas, entre ellas las pruebas rápidas, detectan la presencia o ausencia de anticuerpos contra el VIH-1, VIH-2 y el antígeno p24 del VIH-1. Ninguna prueba puede diagnosticar por sí sola la presencia del VIH, por ello es importante combinar estas pruebas [1,3].

Principio

• Sección de VIH 1.2

La prueba rápida de VIH 1.2 es un inmunoensayo cualitativo para la detección de anticuerpos contra VIH 1.2 en sangre total/capilar, suero o plasma. La prueba cuenta con una membrana impresa con antígenos recombinantes de VIH, así como con un conjugado compuesto de partículas recubiertas de antígenos de VIH. Durante la prueba las muestras reaccionan con los antígenos de VIH presentes en el conjugado, formando un complejo. Dicho complejo migra hacia la membrana por acción capilar y reacciona con los antígenos recombinantes de VIH presentes en la línea de prueba (T) de la membrana. Si la muestra contiene anticuerpos contra VIH-1 y/o VIH-2, una línea coloreada aparecerá en la región de la línea de prueba (T), indicando un resultado positivo. Si la muestra no contiene anticuerpos contra VIH-1 y/o VIH-2, no aparecerá una línea coloreada en la región de la línea de prueba (T), indicando un resultado negativo. Para servir como control de procedimiento, una línea coloreada siempre aparecerá en la región de la línea control (C) que tiene impreso anti-ratón, indicando que un volumen apropiado de la muestra ha sido adicionado y que ha ocurrido la migración en la membrana.

• Sección VIH p24

La prueba rápida de p24 es un inmunoensayo cualitativo para la detección del antígeno p24 del VIH tipo 1 en sangre total/capilar, suero o plasma. La prueba cuenta con una membrana impresa con anticuerpos anti-VIH p24, así como con un conjugado compuesto de partículas recubiertas de anticuerpos anti-VIH p24. Durante la prueba la muestra reacciona con las partículas cubiertas con el anticuerpo VIH p24 en el conjugado. Después, la mezcla se desplaza hacia la membrana por capilaridad y reacciona con el anticuerpo VIH p24 de la membrana en la región de línea de prueba (T). Si la muestra contiene antígeno p24 para VIH tipo 1, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba, lo cual indica un resultado positivo. Si la muestra no contiene antígeno p24 para VIH tipo 1, no se observará la línea de color en la región de prueba (T), lo cual indica un resultado negativo. Para servir como control de procedimiento, una línea de color siempre aparecerá en la región de la línea de control (C) que tiene impreso anti-ratón, lo cual indica que se agregó el volumen correcto de muestra y que se produjo la migración en la membrana.

Reactivos

La prueba contiene antígenos de VIH tipo 1 y tipo 2, así como partículas recubiertas de anticuerpo anti-VIH p24, en el conjugado de cada prueba. La membrana contine antígeno recombinante VIH tipo 1, antígeno recombinante tipo 2, y anticuerpo p24 recubierto en la membrana.

Precauciones

- Para uso profesional *in vitro* solamente.
- **Utilizar muestras de sangre, estas deben de ser frescas (recién recolectadas).**
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
  Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Recolección de muestras

La prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24) requiere de sangre (total/capilar) **fresca** aunque tanto el suero como el plasma pueden ser obtenidos y analizados posterior a su recolección.

Para recolectar muestras de sangre por punción capilar:

a. Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón. Permita que se seque.
b. Masajee la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hacia la yema del dedo anular o medio.
c. Perfore la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera señal de sangre.
d. Frote suavemente la mano desde la palma hasta la yema de los dedos para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
e. Obtenga la muestra de sangre por:
   Mediante el uso de un gotero
   - Presione el bulbo del gotero y coloque el extremo inferior sobre la gota de muestra, suelte el bulbo para recolectar la muestra.
     Nota: Evite generar burbujas de aire durante el proceso.

Para recolectar muestras de sangre por venopunción:

A. Tomar la muestra en base a los criterios establecidos.
B. Separar el suero o plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Sólo muestras claras, no hemolizadas se pueden utilizar.
C. Las pruebas deben realizarse inmediatamente después de recolectar la muestra.
D. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados.

Almacenamiento de la muestra

- Se recomienda realizar la prueba inmediatamente después de que las muestras han sido recolectadas.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Las muestras de sangre pueden almacenarse por dos días máximo a una temperatura de 2-8 °C.
- Suero y plasma pueden almacenarse por máximo 3 días a una temperatura de 2-8 °C.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben de almacenarse por debajo de los -20 °C.
- No congelar las muestras de sangre a excepción del suero o plasma, recuerde evitar ciclos de congelación y
- descongelación repentinos y continuos.
- Las muestras obtenidas por punción capilar deben procesarse inmediatamente.
- Utilizar muestras claras no hemolizadas, si existen partículas centrifugue, filtre y obtenga la muestra.
- Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

Materiales

Materiales suministrados:

- Prueba rápida en cartucho para VIH 1.2 y p24
- Solución de corrimiento (Buffer)
- Gotero
- Instructivo de uso
- Lanceta (Punción capilar)
- Almohadilla con alcohol

Materiales opcionales:

- Centrifuga
- Sistema para toma de muestra por venopunción

Materiales requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador

Instrucciones de uso

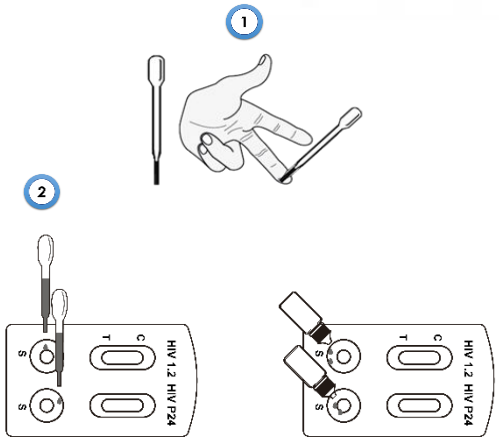
Permita que la prueba, muestra y buffer alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba. Retire el cartucho de la bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

1. Recolecte la muestra según lo indicado.
2. A continuación, agregue la muestra y el buffer en cada pozo 'S' de ambas secciones (HIV 1.2 y HIVP24) del cartucho según corresponda.

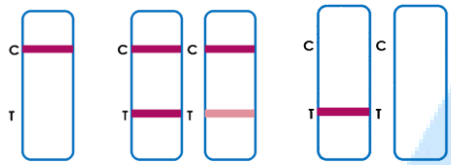
   Para muestras de sangre (**total** o **capilar**):
   - Deposite una gota de la muestra (aproximadamente 25 µL).
   - Deposite dos gotas de solución de corrimiento (aproximadamente 80 µL).

   Para muestras de **suero** o **plasma**:
   - Deposite una gota de la muestra (aproximadamente 25 µL).
   - Deposite una gota de solución de corrimiento (aproximadamente 40 µL).

3. Inicie un temporizador e interprete resultados a los 15 minutos.
   Nota: No interprete el resultado después de 20 minutos.
   Advertencia: Se sugiere no utilizar la solución de corrimiento, después de 3 meses de haber sido abierto.



Interpretación de resultados



VIH 1/2 POSITIVO: Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de prueba (T) de VIH 1.2.

p24 POSITIVO: Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de prueba (T) de VIH P24.

NOTA: La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar, por lo que cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Una línea de color aparece. Una línea de color debe estar en la región de control (C), no aparece ninguna línea en la región de línea de prueba (T).

INVÁLIDO: La línea de control no aparece. Cantidad de muestra insuficiente o procedimiento incorrecto, son las razones más probables para el fallo de la línea de control. Repase el procedimiento y repítalo con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar la prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor.

Control de calidad

Se incluye un control de procedimiento en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es el control interno de procedimiento. Éste confirma el volumen de muestra suficiente, la adecuada absorción de la membrana y la técnica de procedimiento correcto. No se suministran estándares con esta prueba; sin embargo, es recomendable que un control positivo y un control negativo se prueben como buena práctica de laboratorio para confirmar el proceso de prueba y verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

Limitaciones

1. La prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24) solo es funcional con muestras de sangre recién recolectadas, por lo que, no se garantiza un correcto funcionamiento al analizar muestras de sangre que hayan sido almacenadas aun si fue en temperaturas óptimas.
2. La prueba debe utilizarse para la detección de anticuerpos contra VIH tipo 1, VIH tipo 2 y antígenos p24 del VIH tipo 1 en muestras de sangre entera, suero o plasma solamente.
3. Ni el valor cuantitativo, ni la tasa de incremento en anticuerpos contra VIH tipo 1, VIH tipo 2 y antígenos p24 del VIH tipo 1 pueden determinarse por esta prueba cualitativa.
4. La prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24) únicamente indicará la presencia de anticuerpos contra VIH tipo 1, VIH tipo 2 y antígenos p24 del VIH tipo 1 en la muestra y no debe ser usado como único criterio para el diagnóstico de infección por VIH.
5. Como con todas las pruebas de laboratorio, los resultados deben ser interpretados en conjunto con otra información clínica disponible para el médico.
6. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se sugiere realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye en ningún momento la posibilidad de infección por VIH.
7. Para realizar la prueba los valores de hematocrito de la sangre entera deben de encontrarse entre 25% y 65%.
8. La prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24) solo es de tamizaje, cualquier resultado debe ser corroborado por otro método clínico.

Valores esperados

La prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24) ha sido comparada con un inmunoensayo enzimático para la detección de VIH. La correlación entre estos dos sistemas fue superior al 97%.

Sensibilidad y especificidad

Sección VIH 1.2

La prueba rápida de VIH 1.2 se analizó con un panel de seroconversión, identificando todas las muestras satisfactoriamente. También fue evaluada con muestras clínicas, se usó una prueba de ELISA para la detección de VIH como comparativo. Los resultados mostraron que la sensibilidad relativa de la prueba rápida de VIH 1.2 es >99.9% y que la especificidad relativa es de 99.9%.

Método		ELISA		Total de resultados
Prueba rápida de VIH 1.2	RESULTADO	Positivo (+)	Negativo (-)	
	Positivo (+)	108	1	109
	Negativo (-)	0	925	925
Total de resultados		108	926	1034

Sensibilidad Relativa: >99.9% (95%CI*: 97.3%-100%);
Especificidad Relativa: 99.9% (95%CI*: 99.4%-100%);
Exactitud: 99.9% (95%CI*: 99.5%-100%).
*Intervalos de confianza

Sección VIH p24

La prueba rápida de antígeno VIH p24 fue evaluada con muestras clínicas, se usó una prueba de ELISA para la detección de VIH como comparativo. Los resultados mostraron que la sensibilidad relativa de la prueba rápida de antígeno VIH p24 es de 80% y que la especificidad relativa es de 99.3%.

Método		ELISA		Total de resultados
Prueba rápida de p24	RESULTADO	Positivo (+)	Negativo (-)	
	Positivo (+)	24	2	26
	Negativo (-)	6	298	304
Total de resultados		30	300	330

Sensibilidad Relativa: 80% (95%CI*: 61.4%~92.3%);
Especificidad Relativa: 99.3% (95%CI*: 97.6%~99.9%);
Exactitud: 97.6% (95%CI*: 95.3%~98.9%).
*Intervalos de Confianza

Reactividad cruzada

La prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24) ha sido probada con muestras positivas de anti-HAMA IgG, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, anti-HCV IgG, anti-Sífilis IgG, anti-RF IgG, antiMONO IgM, anti-*H. Pylori* IgG, anti-Rubeola IgG, anti-Rubeola IgM, anti-CMV IgG, antiCMV IgM, anti-Toxo IgG y anti-Toxo IgM. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

Precisión

Intra-Ensayo

La precisión dentro del ensayo ha sido determinada utilizando 15 réplicas de cuatro muestras: una negativa, una positiva baja, una positiva media y una positiva alta. Las muestras fueron correctamente identificadas el >99% de las veces.

Inter-Ensayo

La precisión entre series ha sido determinada por 15 ensayos independientes sobre las cuatro mismas muestras: una negativa, una positiva baja, una positiva media y una positiva alta. Tres lotes diferentes de la prueba rápida de VIH 4ta generación (1.2 y p24) han sido probados durante un periodo de 10 días utilizando las muestras mencionadas. Las muestras fueron correctamente identificadas el >99% de las veces.

Sustancias interferentes

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes fueron añadidas a muestras positivas y negativas a VIH:

Acetaminofén: 20 mg/dL	Albúmina: 2 g/dL
Cafeína: 20 mg/dL	Creatina: 200 mg/dL
Ácido Acetilsalicílico: 20 mg/dL	Hemoglobina: 1.1 mg/dL
Ácido Gentísico: 20 mg/dL	Bilirrubina: 1 g/dL
Ácido Ascórbico: 2 g/dL	Ácido oxálico: 600 mg/dL

Ninguna de las sustancias a la concentración probada interfirió con el ensayo.

Referencias

[1]. Organización Panamericana de la Salud (OPS). VIH/SIDA. https://www.paho.org/es/temas/vihsida.

[2]. Lamotte Castillo, J. A. (2014). Infección por VIH/sida en el mundo actual. *Medisan*, *18*(7), 993-1013.

[3]. Delgado, R. (2011). Características virológicas del VIH. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 29(1), 58-65. https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.10.001.

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño *in vitro*
15°C 30°C	Almacenar entre 15 – 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado
UPI	Uso para investigación

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
2	No reutilizar