

HIV 1/2 + Antígeno p24

4ta Generación (Oro Coloidal) (Suero/Plasma/Sangre Total)

Prueba de detección rápida de HIV 1/2 y antígeno p24 en suero, plasma y sangre total de un paso.

Uso:

Esta prueba rápida es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos contra el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) tipo 1 y/o tipo 2 y antígeno p24 (4ta Generación), puede ser realizado en sangre total, suero o plasma.

Principio:

Esta prueba se basa en el principio de la reacción antígeno-anticuerpo de alta especificidad y en la tecnología de análisis inmunocromatográfico con marcaje de oro coloidal. El reactivo contiene antígeno recombinante del VIH 1/2 prefijado en la zona de prueba (T1) y anticuerpo monoclonal anti-P24 en la zona de prueba (T2) de la membrana; el antígeno recombinante del VIH 1/2 y el anticuerpo monoclonal anti-P24 recubren la mezcla de la almohadilla de marcaje y oro coloidal. La muestra se deposita en el pocillo de muestra y reacciona con el antígeno recombinante del VIH 1/2 y/o el anticuerpo monoclonal anti-P24 que se encuentra unido a las partículas de oro coloidal recubiertas previamente durante la prueba. A continuación, la mezcla se cromatografía hacia arriba por efecto capilar. Si el resultado es positivo para el anticuerpo del VIH 1/2, el antígeno marcado con partículas de oro coloidal se unirá primero al anticuerpo que se va a analizar en la muestra durante la cromatografía. A continuación, los conjugados se unen al antígeno recombinante del VIH 1/2 fijado en la membrana, y aparece una línea roja en la zona de prueba (T1). Si el resultado es positivo para el antígeno P24, el anticuerpo marcado con partículas de oro coloidal se unirá primero al antígeno que se va a analizar en la muestra durante la cromatografía. A continuación, los conjugados se unen al anticuerpo monoclonal anti-P24 fijado en la membrana, y aparece una línea roja en la zona de prueba (T2). Si el resultado es negativo, no aparece ninguna línea roja en la zona de prueba (T). Independientemente de que la muestra contenga o no el anticuerpo que se va a analizar, aparecerá una línea roja en la zona de control de calidad (C). La línea roja que aparece en la zona de control de calidad

Almacenamiento y Estabilidad:

Almacene el kit de prueba por debajo de 2 °C a 35 °C. No congelar. Utilice el kit hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Recolección de la Muestra:

Considere cualquier material de origen humano como infeccioso y manipúlelo siguiendo los procedimientos estándar de bioseguridad.

Plasma:

1. Recoja la muestra de sangre en un tubo de recogida (con anticoagulantes de heparina, EDTA o citrato de sodio) mediante punción venosa. Los diferentes anticoagulantes (EDTA, heparina, citrato de sodio) utilizados habitualmente en dosis clínicas no afectan a los resultados analíticos de las muestras; las concentraciones específicas son: el EDTA, 1,4-1,6 g/l en sangre; la heparina, 10,0-12,5 UI/ml en sangre; las soluciones con una concentración de citrato de sodio de 0,129 mol/l (3,8 %) y la sangre se utilizan en una proporción de 1:9.

2. Separar el plasma mediante centrifugación.

3. Extraer con cuidado el plasma y transferirlo a un nuevo tubo previamente etiquetado.

Suero:

1. Recoger la muestra de sangre en un tubo de recogida (que no contenga anticoagulantes) mediante punción venosa.

2. Deje que la sangre coagule.

3. Separe el suero mediante centrifugación.

4. Transfiera con cuidado el suero a un nuevo tubo previamente etiquetado. Analice las muestras lo antes posible tras su recogida. Conserve las muestras a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 3 días si no se analizan inmediatamente.

Sangre completa:

Se pueden obtener gotas de sangre completa mediante punción en la yema del dedo. No utilice sangre hemolizada para el análisis. Las muestras de sangre total deben conservarse en el frigorífico (entre 2 °C y 8 °C) si no se analizan de inmediato. Las muestras deben analizarse en un plazo de 24 horas tras su recogida.

Precauciones:

- Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. No utilizar después de fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en la zona donde se manipulen las muestras o los kits.

• Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.

Observar las precauciones establecidas contra los agentes microbiológicos durante la realización de las pruebas y siga los procedimientos para la correcta eliminación de las muestras.

• Utilice ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.

• La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

Materiales Proporcionados:

- Cassettes. La cantidad de cassettes de pruebas están indicadas en la caja.
- Buffer.
- Inserto: 1 copia.

Materiales Requeridos (Pero no provistos):

- Recipientes de recogida de muestras.
- Lancetas (sólo para punción digital de sangre total).
- Tubos capilares heparinizados desechables y pera dosificadora (sólo para punción digital de sangre total).
- Centrifugadora (sólo para plasma).
- Temporizador.

Procedimiento de la Prueba:

1. Deje reposar el cassette de análisis, la muestra y el buffer durante 15-30 minutos, y deje que alcancen la temperatura ambiente (10-30 °C).

2. Abra la bolsa de papel de aluminio del cassette de análisis y coloque el cassette sobre una superficie plana.

3. Anote el identificador de la muestra en la carcasa de plástico del cassette de análisis.

4. Detección de la muestra.

A. Muestras de sangre total:

1. Añada 1 gota de muestra de sangre total (aproximadamente 30 µl) al pocillo de muestra del cassette de prueba.

2. A continuación, añada 1 gota de tampón al pocillo de muestra del cassette de prueba.

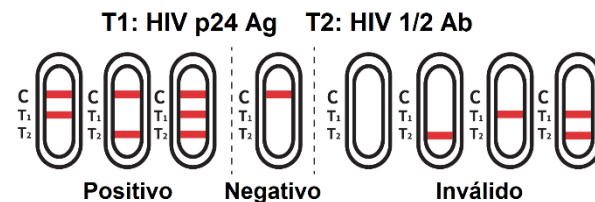
3. Espere a que aparezcan las bandas de color. El resultado debe leerse en un plazo de 15 minutos. No interprete el resultado transcurridos 20 minutos.

B. Muestras de suero o plasma:

1. Añada 60 µl de suero o plasma al pocillo de muestra del cassette de prueba.

2. Espere a que aparezcan las bandas de color. El resultado debe leerse en un plazo de 15 minutos. No interprete el resultado transcurridos 20 minutos.

Interpretación de los Resultados:



Negativo: Solo aparece una línea roja en la zona de control de calidad (C) y no aparece ninguna línea en la zona de prueba (T).

Positivo: Aparecen una o dos líneas rojas en la zona de prueba (T) y una línea roja en la zona de control de calidad (C).

No válido: No aparece ninguna línea roja en el área de control de calidad (C). Esto indica que el procedimiento no se ha realizado correctamente o que el cassette de prueba está deteriorado o dañado.

Repita la prueba con un nuevo kit. Si el problema persiste, deje de utilizar este número de lote inmediatamente y póngase en contacto con su proveedor local.

Limitaciones del Procedimiento:

1. Esta prueba está destinada exclusivamente a la detección del VIH-1/2 y antígeno p24 en muestras de sangre total, suero o plasma.
2. La precisión de la prueba depende de la recogida, la manipulación, el almacenamiento y el procedimiento de uso de las muestras. Una recogida inadecuada de las muestras, un almacenamiento incorrecto de las mismas, el uso de muestras que no sean recientes o los ciclos repetidos de congelación y descongelación de las muestras afectarán a los resultados de la prueba.
3. El cassette de la prueba solo permite la detección cualitativa del VIH-1/2 y antígeno p24 en la muestra. Si necesita detectar el contenido específico de un indicador, utilice los instrumentos profesionales pertinentes.
4. El resultado de la prueba de esta prueba es únicamente para referencia clínica y no debe utilizarse como única base para el diagnóstico y el tratamiento clínicos.

Control de Calidad:

Los controles internos de procedimiento se incluyen en la prueba. Una línea roja que aparece en la región de control (C) es un control positivo interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. De no observarse ninguna línea en la zona de control (C) de la membrana de reacción, significa que la muestra no se ha añadido correctamente o que la prueba podría haberse deteriorado.

No obstante, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba.

Características del Desempeño:

Límite mínimo de detección:

Detección de tres productos de referencia para la

sensibilidad al VIH 1/2 (L1, L2, L3), y el resultado es negativo para L3; positivo para L1; positivo o negativo para L2.

Detección de tres productos de referencia para la sensibilidad al antígeno P24 del VIH (L1, L2, L3), y el resultado es negativo para L3; positivo para L1; positivo o negativo para L2.

Análisis de sensibilidad y especificidad:

Detección de 20 productos de referencia corporativos positivos para el VIH 1/2, y los resultados fueron todos positivos.

Detección de 10 productos de referencia corporativos positivos para el antígeno P24 del VIH, y los resultados fueron todos positivos.

Detección de 20 productos de referencia corporativos negativos para el VIH 1/2, y los resultados fueron negativos.

Detección de 10 productos de referencia corporativos negativos para el antígeno P24 del VIH, y los resultados fueron todos negativos.

Repetibilidad y reproducibilidad:

No se observó ninguna diferencia significativa en la misma muestra al realizar repetidamente 10 pruebas del mismo lote. No se observaron variaciones intra e interlote apreciables entre las diferentes pruebas de cada lote, entre lotes distintos, entre diferentes operadores en distintos centros de análisis y en momentos diferentes para la misma muestra.

Sensibilidad y especificidad diagnósticas:

La prueba se ha comparado con otra prueba rápida comercial líder utilizando muestras clínicas. Tras calcular la especificidad y la sensibilidad, los resultados son los siguientes:

Kit Evaluado	Kit Comparado		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	321	6	327
Negativo	3	714	717
Total	324	720	1044

Sensibilidad diagnóstica: $321/324 \times 100 \% = 99,07 \%$

Especificidad diagnóstica: $714/720 \times 100 \% = 99,17 \%$

Tasa de coincidencia global: $(21 + 714) / 1044 \times 100 \% = 99,14 \%$

Reactividad cruzada:

Esta prueba no presenta reactividad cruzada con los siguientes microorganismos:

Hepatitis B core antibody (HBcAb).

Hepatitis B surface antibody (HBsAb).

Hepatitis B e Antigen (HBeAg).

Hepatitis B e Antigen (HBeAg).

Hepatitis B e antibody (HBeAb).

Human antimos antibody (HAMA).

Cytomegalovirus(CMV) antibody.

Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg).

Hepatitis C virus (HCV) antibody.

Rheumatoid factor (RF).

H. Pylori antibody.

Syphilis- antibody.

Interferencias:

Se evaluaron las siguientes sustancias potencialmente interferentes con la prueba en las concentraciones que se indican a continuación y se comprobó que no afectaban al rendimiento de la prueba.

Sustancia	Concentración
Triglicéridos	1000 mg/dL
Bilirrubina	1 mg/dL
Hemoglobina	25 g/dL
Acetaminofén	20 mg/dL
Cafeína	20 mg/dL
Ácido Acetilsalicílico	mg/dL
Ácido Gentísico	mg/dL
Ácido Ascórbico	2 g/dL
Albumina	2 g/dL
Creatina	200 mg/dL
Ácido Oxálico	600 mg/dL

Referencias:

1. Respass RA, Rayfield MA and Dondero TJ (2001) Laboratory testing and rapid HIV assays: applications for HIV surveillance in hard- to-reach populations. AIDS 15 Supplement 3: S49-S59.

2. Lyons MS, Lindsell CJ, Hawkins DA, Raab DL, Trott AT and Fichtenbaum CJ (2008) Contributions to early HIV diagnosis among patients linked to care vary by testing venue. BMC Public Health 8:220

