

MATERIALES
Materiales Incluidos

- Cassettes de testeo empacados individualmente
- Diluyente de muestra (REF SB-R0018, 5 mL/botella)
- Tubos capilares de 20 µL
- Lancetas
- Manual Inserto

Materiales Requeridos no incluidos

- Centrífuga
- Lancetas para testeo de sangre
- Timer

PRECAUCIONES

- Solo para uso profesional *in vitro*. No usar después de la fecha de caducidad.
- El inserto de instrucciones debe ser leído completamente antes de llevar a cabo el test. Errores durante la ejecución del test puede llevar a resultados imprecisos.
- No abrir las bolsas selladas hasta el instante de llevar a cabo el ensayo
- No usar cassettes o reactivos vencidos
- Mantenga todos los reactivos a temperatura ambiente (15-30°C) antes de su uso
- No use componentes de otro kit como sustituto de los componentes del kit
- No use sangre hemolizada para el testeo
- Utilice delantal y guantes desechables para la manipulación de los reactivos y los especímenes clínicos. Lave bien sus manos una vez realizado el test.
- Los usuarios de este test deben seguir las Precauciones Universales CDC para la prevención de transmisión de VIH, HBV y otros patógenos asociados a sangre.
- No fume, beba o coma en áreas donde los especímenes o los reactivos del kit han sido manipulados
- Deseche todos los especímenes y materiales usados para llevar a cabo el test como desecho biohazard.
- Manipule los controles positivos y negativos de la misma manera que los especímenes clínicos
- El resultado del test debe ser leído 15 minutos después de la inoculación del espécimen en el pocillo de muestra del cassette. Leer el resultado después de 20 minutos puede llevar a resultados erróneos.
- No lleve a cabo el test en una habitación con fuertes corrientes de aire p.ej. un ventilador o aire acondicionado fuerte.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Todos los reactivos están listos para su uso. Almacene sin uso y sin abrir a 2-30°C. Si se almacena a 2-8°C, asegúrese que los dispositivos son traídos a temperatura ambiente antes de su uso. Los dispositivos son estables hasta su fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. No congele el kit, ni lo exponga a temperaturas superiores a 30°C.

TOMA DE ESPÉCIMEN Y ALMACENAMIENTO

Considere cualquier material de origen humano como infeccioso, y manipule usando procedimientos de bioseguridad.

Plasma:

Paso 1: Colecte la muestra de sangre en un tubo Vacutainer® tapa violeta, azul o verde (conteniendo EDTA, citrato o heparina, respectivamente), vía punción venosa

Paso 2: Separe el plasma por centrifugación

Paso 3: Colecte el plasma en un tubo previamente identificado

Suero:

Paso 1: Colecte la muestra de sangre en un tubo Vacutainer® tapa roja (sin anticoagulantes)

Paso 2: Permita la formación del coágulo

Paso 3: Separe el suero por centrifugación

Paso 4: Colecte el plasma en un tubo previamente identificado

Testee los especímenes lo antes posible después de su colección. Si no se testea inmediatamente, almacene las muestras a 2-8°C un máximo de 5 días. Para un almacenamiento de un mayor periodo, congele las muestras a -20°C. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamiento. Previo al testeo, ambiente las muestras a temperatura ambiente lentamente, y mezcle suavemente.

Lleve a cabo una etapa de centrifugación a las muestras que presenten partículas en suspensión. No use muestras que presenten marcados signos de lipemia, hemólisis o turbidez, para evitar interferencia con la interpretación de resultados.

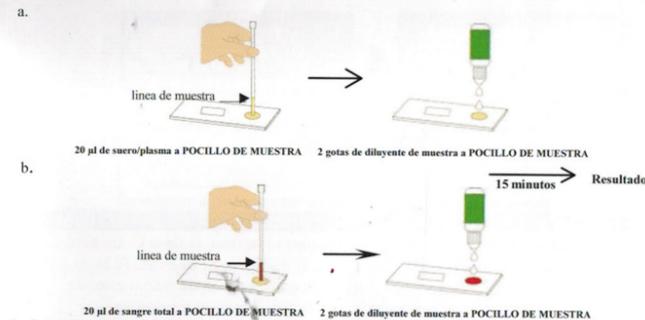
Sangre completa:

Gotas de sangre completa pueden obtenerse por punción venosa o punción con lanceta. Para punción venosa colete la muestra de sangre en un tubo Vacutainer® tapa violeta, azul o verde (conteniendo EDTA, citrato o heparina, respectivamente). No use sangre hemolizada. Sangre completa debe ser almacenada a 2-8°C si no se lleva a cabo el test inmediatamente. Las muestras deben ser testeadas dentro de las 24 horas siguientes a la colección.

Para punción por lanceta, desinfectar el área del dedo con una toalla antiséptica, y espere a que la superficie esté seca. Con una lanceta estéril, puncione la piel justo fuera del centro del dedo y descarte con una gasa estéril la primera gota. No presione el dedo por acelerar el sangrado ya que esto puede alterar la concentración tisular de la gota.

PROCEDIMIENTO

- Lleve las muestras y los reactivos del test a temperatura ambiente, si estaban congelados o refrigerados. Una vez ambientadas, mezcle bien las muestras antes de proceder.
- Cuando esté listo para proceder, abra la bolsa en el precipado, y saque el cassette. Colóquelo en una superficie limpia y lisa.
- Asegúrese de identificar el cassette con el ID de la muestra.
- Llene el tubo capilar con muestra (directo de la punción con lanceta con sangre de segunda gota ; o directo del tubo para sangre de venipunción) sin exceder la línea indicada como muestra la imagen a continuación. El volumen de muestra es aproximadamente 20 µL. **Para máxima precisión, transfiera la muestra usando una micropipeta capaz de tomar un volumen de 20 µL.** Sosteniendo el tubo capilar verticalmente, dispense la totalidad del volumen de muestra en el centro del pocillo de muestra , asegurándose que no hayan burbujas de aire. Inmediatamente añada dos gotas (60-80 µL) de diluyente de muestra en el pocillo de muestra



- Programa el timer
- Los resultados deben ser leídos en 15 minutos. Resultados positivos pueden ser visibles en un minuto.

No lea el resultado trascurridos 20 minutos. Para evitar confusiones, descarte el cassette después de interpretado el resultado.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. RESULTADO NEGATIVO O NO REACTIVO: Si sólo hay aparición de la línea C, el test indica que no hay detección de anticuerpos anti-HIV en la muestra. El resultado es negativo o no reactivo.



2. RESULTADO POSITIVO O REACTIVO:

2.1 Si en adición a la aparición de línea C, hay aparición de línea Ab, el test indica la presencia de anticuerpos anti HIV-1 o HIV-2 en la muestra. El resultado es HIV 1+2 Ab positivo o reactivo.

Test rápido para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM, IgA) anti-virus HIV-1 (incluyendo O) y -2, y antígeno p24 de HIV-1 en suero humano, plasma o sangre completa. Para diagnóstico profesional in vitro solamente.

USO RECOMENDADO

El cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab de 4ta generación (3ra generación más detección p24) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM y IgA) anti virus HIV-1 (incluyendo O) y -2 y antígeno p24 de HIV-1 en suero humano, plasma o sangre total.

INTRODUCCIÓN

El virus de la inmunodeficiencia humana tipo I y tipo II (HIV-1 y HIV-2) son virus de hebra simple, recubiertos de RNA de sentido positivo. La relación causal entre los virus HIV-1 y HIV-2 y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ha sido establecida por décadas. HIV-1 ha sido aislado de pacientes con SIDA y complejos relacionados con SIDA, y de individuos sanos con un alto riesgo de desarrollar SIDA¹. HIV-2 ha sido aislado de pacientes con SIDA de África del Oeste y de personas asintomáticas seropositivas². HIV-1 es mucho más prevalente mundialmente que HIV-2. Estudios recientes han mostrado que más de 30 millones de personas han sido infectadas con HIV-1.

Tanto el virus HIV-1 como HIV-2 puede generar fuertes respuestas inmunes³ incluyendo la producción de anticuerpos antivirales. La presencia de un anticuerpo específico anti-HIV-1 o HIV-2 en sangre completa, suero o plasma indica la exposición de un individuo a HIV-1 o HIV-2 por lo que es de gran valor para el diagnóstico clínico⁴. Los test que detectan el antígeno p24 de HIV pueden ser útiles para el diagnóstico temprano, ya que el antígeno p24 es uno de los marcadores más tempranos de la infección de HIV. Se ha planteado que la infección de HIV es detectable con el antígeno p24 seis días antes que con un test de anticuerpos⁵.

El cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab de 4ta generación utiliza anticuerpos recombinantes gp-120-41, gp36 y anti-p24 que pueden detectar anticuerpos (IgG, IgM y IgA) anti virusHIV-1 (incluyendo O) o HIV-2 y antígeno p24 HIV-1 en sangre, suero o plasma en 15 minutos. El test puede realizarse sin equipos de laboratorio.

PRINCIPIO

El cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab de 4ta generación (sangre, suero y plasma) es un ensayo inmunocromatográfico de tipo cassette de flujo lateral. La cinta de testeo consiste en: 1) Una almohadilla con conjugado de color bordeaux que contiene antígenos recombinantes HIV-gp120-41 y gp-36 conjugados con oro coloidal (conjugados HIV), anticuerpos monoclonales anti-HIV-1 p24 conjugados con oro coloidal (conjugados p24) y conjugados IgG de conejo-oro (para línea control); 2) una membrana de nitrocelulosa conteniendo dos líneas de testeo (línea Ag y línea Ab) y una línea control (línea C). La línea Ab está recubierta con antígenos HIVgp120-41 y HIV-2 gp-36 para la detección de anticuerpos anti HIV-1 incluyendo O ó HIV-2, la línea Ag está recubierta con otro anticuerpo monoclonal anti-HIV-p24 para la detección del antígeno p24, y la línea C está recubierta con anticuerpo de cabra anti IgG de conejo.

Cuando un volumen adecuado de muestra es dispensado al pocillo de muestra en el cassette de testeo, la muestra migra por capilaridad a lo largo del cassette. Los anticuerpos IgG, IgM o IgA anti HIV-1 o HIV-2, si están presentes en la muestra, migran a lo largo de la almohadilla conjugada donde se unen a los conjugados HIV. El inmunocomplejo luego es capturado en la membrana por los antígenos unidos HIV-1+2 formando una línea coloreada Ab bordeaux, indicando un resultado de testeo positivo. La ausencia de la línea Ab sugiere un resultado negativo HIV-1 y HIV-2.

El antígeno p24 de HIV-1, si está presente en la muestra, migra a lo largo de la almohadilla conjugada donde se une al conjugado p24. El inmunocomplejo es luego capturado en la membrana por el anticuerpo HIV-p24 unido a la membrana, formando una línea coloreada Ag bordeaux, indicando un resultado de testeo positivo. La ausencia de una línea Ag sugiere un resultado negativo HIV p-24.

El test contiene un control interno (línea C) que debe mostrar una línea coloreada bordeaux del inmunocomplejo conjugado cabra antiIgG de conejo/ IgG de conejo-oro, sin importar la presencia de cualquier línea de testeo coloreada. Si la línea C no se forma, el resultado del test es inválido y la muestra debe ser retestada con otro cassette.



2.2 Si en adición a la aparición de línea C, hay aparición de línea Ag (incluida línea tenue) el test indica la presencia de HIV-p24. El resultado es HIV p24 positivo o reactivo.



2.3 Si en adición a la aparición de línea C, hay aparición de línea Ab y Ag, el resultado es positivo o reactivo tanto para HIV 1+2 Ab como para antígeno p24.



Muestras con resultados positivos o negativos deben ser confirmados con técnicas complementarias adicionales y un cuadro clínico antes de que un diagnóstico sea hecho.

3. **INVÁLIDO:** Si no hay aparición de la línea C, el ensayo es inválido sin importar la aparición de color en las líneas de testeo Ab ó Ag, como se indica en el diagrama. Repita el ensayo con un nuevo cassette.



CONTROL DE CALIDAD

- Control Interno:** Este test contiene un control interno, la línea C. La línea C se genera una vez agregada la muestra y el diluyente de muestra. Si la línea C no se forma, revise el procedimiento y repita el test con un nuevo cassette.
- Control Externo:** Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan usar controles externos, positivo y negativo, para asegurar la correcta ejecución del ensayo, particularmente bajo las siguientes circunstancias:

- * Un nuevo operador usa el kit, previo a llevar a cabo ensayos con muestras
- * Un nuevo lote de kit es usado
- * Un nuevo envío de kits será usado
- * La temperatura durante el almacenaje cae fuera del rango 2-30°C.
- * La temperatura del área de testeo cae fuera del rango 15-30°C
- * Para verificar una frecuencia más alta de lo normal de resultados positivos o negativos
- * Para investigar la causa de resultados inválidos reiterados

LIMITACIONES DEL KIT

- Las secciones Procedimiento del ensayo y Interpretación de los resultados deben ser seguidos fielmente cuando se testea la presencia de anticuerpos anti HIV y/o antígeno p24 en suero, plasma o sangre completa en individuos. Una falla en seguir las instrucciones puede llevar a resultados imprecisos.
- El cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab está limitado a la detección cualitativa de anticuerpos anti HIV-1 y HIV-2 y/o p24 de HIV-1 en suero humano, plasma o sangre completa. La intensidad de las líneas del test no tienen relación lineal con la concentración del anticuerpo en la muestra.
- Un test no reactivo para un sujeto singular indica ausencia de anti-HIV-1, anti-HIV-2 y/o antígeno p24 HIV-1 detectable. Sin embargo, un test no reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección con HIV-1 o

- HIV-2.
- Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos HIV-1 o HIV-2 y/o antígeno p24 de HIV-1 presentes en la muestra está bajo los límites de detección del ensayo o que los anticuerpos/antígenos que son detectados no están presentes durante fase de la enfermedad en la cual la muestra fue colectada.
- Si los síntomas persisten, mientras el resultado del cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab es negativo o no reactivo, es recomendable testear con un método alternativo o retestear al paciente un par de días después.
- Usualmente altas concentraciones de anticuerpos heterófilos o el factor reumatoide puede afectar los resultados esperados.

CARACTERÍSTICAS DEL PROCEDIMIENTO

1. Resultado Clínico

Un total de 350 muestras clínicas fueron colectadas y testeadas por el cassette de testeo Rapid Response MR HIV Ag/Ab 4ta generación (sangre, suero, plasma) y por un test HIV 1+2 de referencia licenciado por la SFDA. Se realizó la comparación para todos los sujetos en la siguiente tabla:

Referencia	Cassette de testeo Rapid Response HIV Ag/Ab de 4ta generación		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	105	0	105
Negativo	0	245	245
Total	105	245	350

Sensibilidad Relativa: 100%, Especificidad Relativa: 100%, Concordancia Total: 100%.

2. Especificidad:

La especificidad del cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab 4ta generación (sangre, suero, plasma) fue evaluado con 1000 muestras de una población normal, y 200 muestras de mujeres embarazadas. Ningún falso positivo fue detectado.

3. Panel de seroconversión de Boston Biomedical Inc (BBI):

El rendimiento del cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab 4ta generación (sangre, suero, plasma) fue evaluado usando el panel de seroconversión PRB967 de BBI. Los resultados se muestran en la tabla a continuación:

Panel PRB-967		BioMerieux Ag HIV pg/mL	Abbot Ab HIV 1/2 s/co	Cassette de testeo Rapid Response HIV Ag/Ab 4ta generación	
ID de Miembros	Días de sangrado			Reactividad Ag	Reactividad Ab
PRB967-04	17	>400.0	2.5	Pos	Pos
PRB967-05	19	>400.0	8.3	Neg	Pos
PRB967-06	24	10.5	8.4	Neg	Pos

Nota: s/co <1: Negativo, s/co ≥ 1: Positivo.

4. Reactividad Cruzada:

Reactividad cruzada fue testada con muestras de otras enfermedades infecciosas, los resultados se presentan en la siguiente tabla:

Muestra	Sample Size	Cassette de testeo Rapid Response HIV Ag/Ab de 4ta generación	
		Reactividad Ag	Reactividad Ab
Positivo HBsAg	20	Negativo	Negativo
Positivo HCV	10	Negativo	Negativo
Positivo sifilis	10	Negativo	Negativo
Positivo HAV	10	Negativo	Negativo
Positivo HEV	10	Negativo	Negativo
Positivo H.pylori	10	Negativo	Negativo
Positivo TB	10	Negativo	Negativo
Positivo ANA	6	Negativo	Negativo
Positivo HAMA	4	Negativo	Negativo
Positivo RM (<2500 IU/mL)	10	Negativo	Negativo

5. Interferencia:

Sustancias comunes (tales como medicación para el dolor y fiebre, y componentes de la sangre) podría afectar el procedimiento del cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab de 4ta generación. Esto fue estudiado al inocular estas sustancias en

controles de tres niveles estándar de HIV Ag y HIV Ab.

El resultado es presentado el la siguiente tabla, y demuestra que a todas las concentraciones testeadas las sustancias estudiadas no afectan el rendimiento de el cassette de testeo Rapid Response^{MR} HIV Ag/Ab de 4ta generación:

Sustancia inoculada potencialmente interferente	Reactividad HIV Ag			Reactividad HIV Ab		
	Negativo	Positivo débil	Positivo fuerte	Negativo	Positivo débil	Positivo fuerte
Control	-	+	+++	-	+	+++
Bilirrubina 20 mg/dL	-	+	+++	-	+	+++
Glucosa 55 mmol/L	-	+	+++	-	+	+++
Hemoglobina 2 g/L	-	+	+++	-	+	+++
Ácido Salicílico 4.34 mmol/L	-	+	+++	-	+	+++
Heparina 3000 U/L	-	+	+++	-	+	+++
EDTA 6.4 umol/L	-	+	+++	-	+	+++
IgG Humana 150 mg/dL	-	+	+++	-	+	+++
Citrato de sodio 3.8%	-	+	+++	-	+	+++

Nota: - : Negativo +: Positivo débil +++: Positivo fuerte

REFERENCIA LITERARIA

- Chang, SY, Bowman, BH, Weiss, JB, Garcia, RE and White, TJ. The origin of HIV-1 isolate HTLV-IIIb. Nature (1993) 3/363:466-9.
- Arya, SK, Beaver, B, Jagodzinski, L, Ensoli, B, Kanki, PJ, Albert, J, Fenyo, EM, Biberfeld, G, Zagury, JF and Laure, F. New human and simian HIV-related retroviruses possess functionaltransactivator(tat) gene. Nature (1987) 328:548-550
- Caetano JA Immunologic aspects of HIV infection. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S- 58S .
- Janssen, RS, Satten, GA, Stramer, SL, Rawal, BD, O'Brien, TR, Weiblen, BJ, Hecht, FM, Jack, N, Cleghorn, FR, Kahn, JO, Chesney, MA and Busch MP. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. JAMA (1998) 280(1):42-4.
- Busch, M.P., Lee, L.L., Satten, G.A., Henrard, D.R., Farzadegan, H., Nelson, K.E., Read, S., Dodd, R.Y and Peterson, L.R. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: implications for screening of blood and tissue donors. Transfusion (1995) 35:91-7.

GLOSARIO DE SÍMBOLO

	Consulte instrucciones de uso		Test por kit		Representante Autorizado
	Para diagnóstico in vitro solamente		Válido hasta		No reutilizar
	Almacenar a 2-30°C		Número de Lote		Catálogo #

BTNX, Inc.
570 Hood Rd, Unit 23
Markham, ON, L3R 4G7, Canada
Technical Support: 1-888-339-9964



Distribuido por:
Rapid Test Chile Spa
Príncipe de Gales 5921 of 305
Teléfonos: 562 2 2474365 - 562 2 2474366

