Manual de uso

Test rápido HIV-1/2 Bio-Manguinhos

Dirección de Respuesta al VIH,
ITS, Hepatitis Virales y Tuberculosis

Ministerio de Salud
Argentina

Índice

Indicaciones de uso 3

Introducción 4

Principio del Test 5

Presentación del producto 6

Material incluido en el kit 7

Material complementario no incluido en el kit 8

Conservación y almacenamiento del material 9

Cuidados y precauciones 10

Toma de muestra de sangre entera, suero o plasma 13

Procedimiento para realizar un TR DPP HIV-1/2 BIO-MANGUINHOS-SSP 14

Interpretación de los resultados 18

Limitaciones del procedimiento 21

Índice de sensibilidad y especificidad 23

Reproducibilidad, repetibilidad y estabilidad 24

Referencias bibliográficas 25

Asistencia técnica 27

Indicaciones de uso

El TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos es un test rápido de un sólo uso para detectar anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana, tipo 1/2 (VIH-1 y VIH-2) en muestras de sangre total venosa y de punción digital, suero o plasma humano. El test se basa en la tecnología de inmunocromatografía y utiliza una plataforma de doble vía. Resultados reactivos son evidencia de exposición al VIH-1 o VIH-2 y pueden ser usados como soporte para el diagnóstico clínico. El TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos es indicado para su utilización por profesionales de la salud y/o personal capacitado en el uso del mismo.

Introducción

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) es un retrovirus identificado en 1983 como agente etiológico del Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) caracterizado por alteraciones en la población de linfocitos T con un papel clave en el sistema inmunológico. En la persona con VIH el virus causa una reducción de la subpoblación de células T, llamadas Células T helper que torna a esos pacientes susceptibles a infecciones oportunistas y neoplasias. Las principales vías de transmisión son las relaciones sexuales sin protección, contaminación con sangre o hemoderivados y la transmisión perinatal.

El VIH está constituído por una molécula de RNA protegida por una cápside y un envoltorio. El envoltorio del VIH es el principal responsable de la respuesta inmunológica. La presencia de virus estimula al sistema inmune para que produzca anticuerpos frente al VIH. La detección de estos anticuerpos puede ser utilizada como una herramienta de diagnóstico. Ensayos inmunoenzimáticos, tests rápidos, inmunofluorescencia, Western blot, técnicas de PCR y otros métodos están disponibles para la detección de VIH-1/2.

Principio del Test

El TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos utiliza una combinación de antígenos de VIH-1 y VIH-2, anticuerpos específicos y conjugado de proteína A con partículas de oro coloidal ligados a una membrana (fase sólida).

La muestra se diluye en un buffer de elución y la solución se adiciona al pocillo 1. El buffer facilita el flujo lateral promoviendo la reacción antígeno-anticuerpo. Después de la migración de la solución (buffer de elución+muestra) a lo largo de la superficie del test se debe agregar buffer de corrida en el pocillo 2. El conjugado se une a los anticuerpos contra VIH-1 y VIH-2 formando la línea (rosa/roja) en la zona de TEST (T). La muestra continúa su migración a lo largo de la membrana formando una línea (rosa/roja) en la zona de CONTROL (C), lo que demuestra el funcionamiento adecuado del reactivo.

Presentación del producto

1. Test rápido DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos-SSP (para 10 determinaciones).

2. Test rápido DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos-SSP (para 20 determinaciones).

Material incluido en el kit

Test rápido DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos-SSP (para 10 determinaciones)	
Soporte DPP HIV (con antígenos de HIV1/2 envasados individualmente)	10 unidades
Buffer de corrida	1 frasco de 3 ml
Capilares descartables (10uL)	10 unidades
Frascos de elución	10 frascos de 1 ml
Lancetas estériles descartables	10 unidades
Adhesivo curativo	10 unidades

Test rápido DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos-SSP (para 20 determinaciones)	
Soporte DPP HIV (con antígenos de HIV1/2 envasados individualmente)	20 unidades
Buffer de corrida	1 frasco de 3 ml
Capilares descartables (10uL)	20 unidades
Frascos de elución	20 frascos de 1 ml
Lancetas estériles descartables	20 unidades
Adhesivo curativo	20 unidades

Volver al índice

Material complementario no incluido en el kit

1. Micropipeta calibrada para 10 uL (como alternativa a la pipeta o capilar colector).

2. Recipientes descartadores de material biológico.

3. Guantes y ambo o camisolín protector individual.

4. Solución de hipoclorito de sodio al 2,5%.

5. Recipientes descartadores de material biológico.

Conservación y almacenamiento del material

El kit de TR DP HIV-1/2 Bio-Manguinhos debe ser almacenado entre 2°C y 30°C. Para preservar las características del producto se recomienda su almacenamiento en espacios climatizados, cámaras frigorífica, caja térmica (telgopor) o cualquier otro accesorio disponible, inclusive heladera, lugares en general cuyas temperaturas no superen los 30°C. No congele el kit o sus componentes. Los soportes del test deben permanecer cerrados hasta el momento de su utilización. El buffer de corrida debe ser mantenido en su recipiente original. Si el kit se almacena en heladera, asegurarse que la temperatura se encuentre entre 15°C y 25°C al momento de su uso.

Cuidados y precauciones

Solamente para uso diagnóstico in vitro.

Este kit diagnóstico contiene productos biológicos y químicos pudiendo representar una fuente de riesgo. Informarse sobre las precauciones de bioseguridad que deben tomarse. La calidad de los resultados obtenidos con este kit diagnóstico depende del cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio tales como:

- El test debe ser realizado por profesionales de la salud y/o personal debidamente capacitado siguiendo las instrucciones contenidas en este manual.
- No realizar más de 5 tests por vez. Esta conducta minimiza los errores de procedimiento del testeo así como los errores en la interpretación de los resultados.
- Las muestras, así como el resto de los insumos involucrados, deben ser almacenados y manipulados adecuadamente.
- Las muestras deben ser homogeneizadas antes de su uso.

- Las muestras de sangre entera, suero o plasma que no fueron testeadas inmediatamente después de la toma de muestra deben ser almacenadas y refrigeradas entre 2°C y 8°C como máximo 3 días después de la colecta antes de ser ensayadas. Si va a transcurrir una mayor cantidad de tiempo entre la toma de muestra y el testeo, las mismas deben congelarse a -20°C o menos.

- Las muestras de sangre entera no pueden ser congeladas.

- Debe utilizarse equipo de protección personal en todas las etapas del testeo.

- Nunca deben usarse tests vencidos.

- No utilizar componentes de lotes diferentes.

- Asegurarse que el envase de los componentes esté intacto. Si alguno de estos presenta alguna irregularidad, separe el kit evitando que sea utilizado.

- Nunca fraccionar los kits.

- No agregar volúmenes de muestras mayores a los indicados (10 uL).

- No agregar la gota de sangre emanada del dedo directamente, utilizar siempre capilar provisto en el kit siguiendo las instrucciones detalladas en el procedimiento del test.

- Tomar precauciones al agregar la muestra: el recipiente de elución debe mantenerse en posición vertical y la muestra debe ser aplicada en el centro del pocillo 1 en el soporte del test.

- Aguardar 5 minutos y observar la desaparición de colores de las líneas de Test (T) y Control (C) y recién en ese momento agregar el buffer de corrida en el pocillo 2.

Atención ⚠

Algunos resultados reactivos pueden aparecer en menos de 10 minutos pero es necesario que transcurran los 10 minutos para confirmar un resultado no reactivo. Disponga de un ambiente bien iluminado para realizar las lecturas de resultados, nunca deben leerse los resultados transcurridos los 25 minutos a partir de el agregado del buffer de corrida en el pocillo 2.

Luego de su utilización, el soporte del test, lancetas y capilares deberán ser descartados en solución de hipoclorito de sodio al 2,5%.

Toma de muestra de sangre entera, suero o plasma

El TR DPP HIV 1/2 Bio Manguinhos SSP puede ser realizado con muestras de sangre entera, suero o plasma humano. Tomar la muestra con el capilar descartable provisto o utilizar una micropipeta de 10 uL. Seguir las instrucciones del procedimiento del test.

Sangre entera	Suero	Plasma
Tomar una muestra de sangre por punción venosa y recolectarla en un tubo con EDTA, heparina o citrato de sodio. Para sangre obtenida por punción digital debe utilizarse la lanceta provista en el kit descartando la primera gota.	A partir de una muestra de sangre entera tomada por punción venosa cargar un tubo limpio sin anticoagulante. Dejar la sangre coagular a temperatura ambiente, centrifugar a 2000 a rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente y separar el suero del coágulo para evitar hemólisis.	A partir de una muestra de sangre entera tomada por punción venosa cargar un tubo limpio con anticoagulante. Centrifugar a 2000 a rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente y separar el plasma sobrenadante.

Procedimiento para realizar un test rápido DPP HIV-1/2 SSP

1. Cerciorarse de que la muestra a testear se encuentre a una temperatura entre 15°C y 25°C. Si la muestra fue previamente refrigerada o congelada esperar a que la misma llegue a la temperatura indicada antes de ensayar.

2. Separar el número necesario de pruebas del kit y colocarlas en una superficie plana. Si el kit fue guardado o refrigerado debe esperarse hasta que llegue a una temperatura entre 15°C y 25°C antes de ensayar.

3. Quitar el envoltorio del soporte del kit e identificarlo con el nombre o número de identificación de la persona, registrar el número de lote de donde fue retirado.

4. Verificar la integridad de todos los componentes y la existencia de dos líneas en la ventana de lectura del resultado del soporte: una de color azul que corresponde a la línea del test (T) y una de color verde correspondiente a la línea control (C). Cuando una o las dos líneas están ausentes descartar el soporte del test para que no sea usado y comunicar lo ocurrido al Servicio técnico de Bio Manguinhos. Enseguida preparar un nuevo soporte de testeo para continuar el procedimiento.

5. Previo a la toma de muestra de sangre entera, suero o plasma, identificar el frasco de elución con el nombre o el número identificatorio del individuo y desenroscar el dosificador (sólo la parte blanca del frasco manteniendo la tapa de color negro enroscada al dosificador).

6. Colocar el capilar de recolección de 10 uL sobre la la muestra a ser testeada permitiendo que el capilar se llene con la misma. Alternativamente pueden utilizarse micropipetas automáticas calibradas y ajustadas para 10 uL. Si la muestra proviene de punción digital debe utilizarse una lanceta provista en el kit.

7. Insertar el capilar de recolección con la muestra en el frasco de elución identificado de manera que toque el fondo del mismo. Doblar el capilar hasta su ruptura de modo que el extremo con la muestra permanezca dentro del frasco de elución.

8. Volver a enroscar la tapa del frasco compuesta por el dosificador blanco y la tapa negra y comprobar que están bien cerrados. Recién entonces agitar levemente durante 10 segundos.

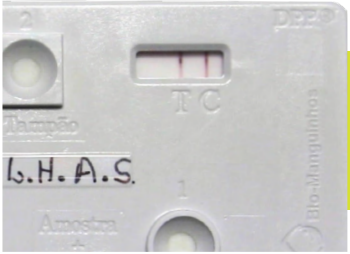
9. Retirar solamente la tapa negra a rosca y girar el frasco de elución manteniéndolo en posición vertical (sin inclinar) sobre el pocillo 1. Agregar 2 (dos) gotas de solución (buffer muestra) lentamente dentro del pocillo 1.

10. Aguardar 5 minutos. Pasado ese tiempo, tanto la línea azul (T) como verde (C) deben haber desaparecido de la ventana. En caso contrario se deberá descartar el soporte y repetir el procedimiento utilizando un soporte nuevo.

11. Verter 4 gotas del frasco del buffer de corrida lentamente sobre el pocillo 2 manteniéndolo en posición vertical sin inclinar.

12. Dejar correr el test por 10 minutos luego de la adición del buffer en el pocillo 2 a temperatura entre 15°C y 25°C, a los 3 minutos no se observa migración, el test debe ser descartado y el ensayo debe realizarse nuevamente.

13. Lectura del ensayo: no leer los resultados después de 25 minutos de agregar el buffer de corrida en el pocillo 2. Lectura visual: colocar el soporte en una superficie plana y bien iluminada. El operador debe posicionarse de manera tal de mantener una distancia de 30 a 50 cm entre el soporte y los ojos. Observar la presencia de las líneas e informar.



14. Luego de la lectura descartar el soporte, capilar, lanceta y frasco de elución utilizados para el testeo en descartador para materiales de riesgo biológico.

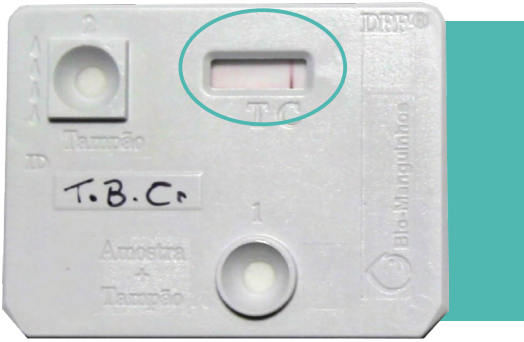
Interpretación de los resultados

Los resultados pueden interpretarse visualmente o con la ayuda de un lector DPP. En caso de dudas en la interpretación de la prueba, separe el soporte y contáctese con el SAC de Bio-Manguinhos.

Resultado NO REACTIVO

Un resultado no reactivo es indicado por una línea rosa/roja en el área de CONTROL (C) y ninguna línea en el área de PRUEBA (T).Este resultado sugiere la ausencia de anticuerpos contra el VIH-1 y el VIH-2 en la muestra pero no excluye la posibilidad de infección por VIH. Una respuesta inmune a una exposición reciente puede tardar algunas semanas en alcanzar niveles detectables (período ventana). En caso de duda, repita la prueba 30 días después de la primera recolección.

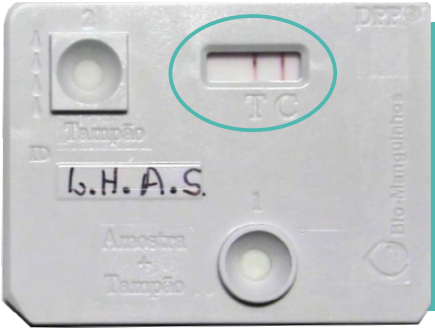
Área de CONTROL C



Resultado REACTIVO

La detección de dos líneas de color rosa/roja, una en el área de CONTROL (C) y otra en el área de PRUEBA (T), indica un resultado reactivo. La intensidad de la línea en el área de TEST (T) varía de clara a muy oscura dependiendo de la concentración de anticuerpos específicos, por lo tanto, la línea en el área de TEST (T) puede verse diferente de la línea en el área de CONTROL (C). Entonces, una diferencia en la intensidad de color de las bandas no invalida la prueba. Un resultado reactivo indica que se han detectado anticuerpos contra el VIH-1 o el VIH-2.

Área de CONTROL C

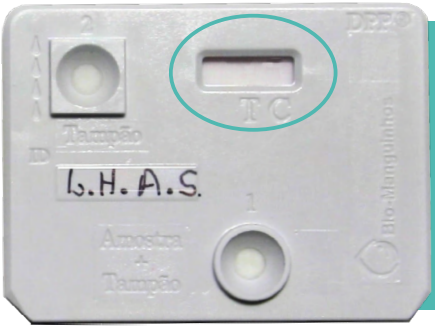


Atención

Un resultado reactivo debe ser confirmado según el algoritmo diagnóstico utilizado.

Resultado NO VÁLIDO
Siempre debe aparecer una línea de color rosa/roja en el área de CONTROL (C), independientemente de la presencia o ausencia de una línea en el área de PRUEBA (T). Si una línea de color rosa/roja no es visible en el área de CONTROL (C), la prueba debe considerarse inválida y no puede interpretarse. En este caso debe separarse el soporte utilizado y contactarse con el SAC de Bio-Manguinhos.Repita el procedimiento de prueba con un nuevo soporte.

Área de CONTROL C



Confirmación del desempeño del test

Al final de la prueba, aparecerá una línea púrpura / rosa en el área de CONTROL (C), tanto en las muestras negativas como en las positivas. Esta línea sirve como control interno, confirmando el adecuado desempeño de la prueba.

Limitaciones del procedimiento

Pueden obtenerse resultados falsos negativos si la prueba se utiliza en muestras provenientes de personas con VIH que reciben o han recibido terapia antirretroviral.

Según el Ministerio de Salud de la República Federativa de Brasil, los resultados falsos positivos pueden ocurrir debido a algunos factores como: vacunación reciente contra la influenza A-H1N1, artritis reumatoidea, colangitis esclerosante primaria, terapia con interferón en personas en hemodiálisis, síndrome de Stevens-Johnson, anticuerpos anti microsomales, anticuerpos HLA (clase I y II), infección viral aguda, adquisición de anticuerpos anti-VIH por transmisión materna, tumores malignos, otros retrovirus, múltiples transfusiones de sangre, presencia de anticuerpos anti-músculo liso.

- El kit debe utilizarse de acuerdo con las instrucciones contenidas en este manual para obtener resultados adecuados.
- El kit debe utilizarse únicamente con muestras de sangre entera (obtenida por punción digital o venopunción), suero o plasma.
- Abrir únicamente en envoltorio del soporte de la prueba al momento de su utilización.

- No utilizar kits o componentes vencidos.
- En el caso de un resultado reactivo sugiere la presencia de anticuerpos contra el VIH-1 o el VIH-2 en la muestra analizada.
- En caso de un resultado del reactivo, la intensidad de la línea de prueba no está necesariamente relacionada con el título de anticuerpos en la muestra.
- Inicialmente se presupone que una persona que presenta anticuerpos contra el VIH-1 o el VIH-2 es una persona con VIH. Excepto en el caso de voluntarios de estudios clínicos con vacunas anti-VIH, que pueden haber desarrollado anticuerpos de la vacuna, estén o no infectados por el virus.
- Un resultado no reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección con VIH, ya que una respuesta inmune a una exposición reciente puede tardar algunas semanas en alcanzar niveles detectables.
- No está indicado el uso en muestras obtenidas de menores de 2 años.

Índice de sensibilidad y especificidad

La sensibilidad del TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos para detectar la infección por VIH-1 se evaluó con 1.966 muestras, siendo 1.090 de individuos seropositivos y 876 de individuos con alto riesgo de infección por VIH-1. De este total, 1.128 muestras se identificaron como positivas para la infección por VIH-1 mediante un ensayo inmunoenzimático (EIE), una reacción Western Blot (WB) y un ensayo NAT, con licencia de la Administración Federal de Drogas (FDA), EUA, además del TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos, en el que todas las muestras mostraron reactividad. La sensibilidad calculada del TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos en estos estudios fue del 100% (1.128/1.128 = 100% con un IC del 95% : 99,7% - 100%). El TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos se evaluó frente a 31 paneles de seroconversión. Cada panel consta de muestras tomadas de manera secuencial a un individuo en seroconversión. Las muestras se confirmaron mediante una reacción de Western Blot (WB) y dos ensayos inmunoenzimáticos (EIE) con licencia de la Administración Federal de Drogas (FDA), EUA. El TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos es similar a los ensayos comerciales autorizados utilizados para detectar seroconversión.

La especificidad del TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos en estos estudios fue del 99,9% (1.506/1.507 -100% con un IC=95%: 99,6% - 99,9%) y se evaluó con muestras de 1.507 individuos de bajo y de alto riesgo de infección por VIH-1.

Reproducibilidad, repetibilidad y estabilidad

Las buenas prácticas de fabricación asociadas a la simplicidad y rapidez en el uso del Kit TR DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos garantizan su reproducibilidad, repetibilidad y estabilidad, pudiendo ser utilizado como un método seguro y eficaz en la detección de anticuerpos específicos para respaldar el diagnóstico clínico de infección por VIH-1 y VIH-2.

Referencias bibliográficas

1. BEELAERT, G. VAN HEDDEGEM, L; VAN FRANKENHULISEN, M.; et al. Evaluation of the intercept oral specimen collection device with HIV assay versus paired plasma / serum specimens. J Virol Methods, 234: 164-8, 2016.

2. BRAZIL. MINISTERIO DA SAUDE. Fatores que causam resultados falso-positivos.Disponivel em: www.aids.gov.br/pagina/fatores-que-causam-resultados-falso-positivos. Acesso em: 06 Mai, 2017.

3. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other bloodbarne pathogens in healthcare settings. MMWR, 37 (24): 377-388, 1988.

4. CENTERS FOR CONTROL AND PREVENTION OF DISEASES (CDC). Revised guidelines for HIV counseling, testing and referral and revised recommendations for HIV screening of pregnant women. MMMWR, 50 (19): 32-35, 200.

5. ESSEX, M; MC LANE. MF: READ TH. et al. Antibodies to cell membrane antigens associated with human T-cell leukemia virus in patients with AIDS. Science, 220: 859-62, 1983.

6. ESSEX, M .; KANKI, PJ .: MARLINK. R, et al. Antigenic characterization of the human immunodeficiency viruses. J AM Acad Dermatol, 22: 1206-1210, 1990.

7. ESSEX, M. Human immunodeficiency viruses in the developing world. Adv Virus Res, 53: 71-88, 1999.

8. GALLO, RC; SALAHUDDIN, SZ; POPOVIC, M. et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLVIII) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science, 224: 500-503, 1984.

9. KANKI, PJ .: HOPPER, JR: ESSEX, M. The origins of HIV-1 and HTLV-4/HIV2, Ann NY Acad Sci, 511: 370-375, 1987.

10. KENEALY, W: REED, D .: CYBULSKY, R., et al. Analysis of human serum antibodies to human virus (HIV) using recombinant ENV and GAG antigens. AIDS Res Human Retrovir, 3: 95-105, 1987.

11. KOVACS, A; XU, J .; RASHEED, S., et al. Comparison of a rapid non-isotopic polymerase chain reaction assay with four commonly used methods for the early diagnosis of human immunodeficiency virus type I infection in neonates and children. Pediatr Infect Dis, J14: 948-954, 1995.

12. NICOLL, A. GILL, O.N. The global impact of HIV Infection and disease. Commum Dis. Publ Health, 2: 85-95, 1999.

13. VALDISERRI, R.O., HOLTGRAVE, D.R., WEST, G.R. Promoting early diagnosis and entry into care. AIDS, 13: 2317-2330, 1999.

14. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Health Observatory (GHO) data. Disponivel em: http: // www. who.int/gho/hiv/en. Acesso em: 06 Jul. 2017.

Asistencia técnica

Puede obtener orientación técnica adicional sobre este producto en:

Instituto de tecnología em immunobiologicos

| Bio-Manguinhos |

FIOCRUZ A Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21040-900

| Rio de Janeiro-RJ |

CNPJ 33.781.055 / 0001-35 SAC: OBO00.210.310

www.sac.reativosiebio.fiocruz.br

Argentina
Presidencia

+info
www.
argentina.
gob.ar/salud/vih-sida