

Determine®

HIV-1/2 Ag/Ab Combo

Estas instrucciones de uso deben leerse atentamente antes de realizar pruebas. Las instrucciones se deben seguir en consecuencia. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si existen desviaciones con respecto a estas instrucciones de uso.

NOMBRE Y FINALIDAD PREVISTA

Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo es un inmunoensayo cualitativo *in vitro* de interpretación visual para la detección simultánea del antígeno HIV p24 (Ag) y anticuerpos (Ab) a HIV-1 y HIV-2 en muestras humanas de suero, plasma o sangre total. La prueba tiene por objeto ser una ayuda para la detección del antígeno HIV y anticuerpos a HIV-1/HIV-2 en individuos infectados.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) se caracteriza por cambios en la población de linfocitos de células T. En un individuo infectado, el virus provoca el agotamiento de las células T colaboradoras, lo que deja a la persona expuesta a infecciones oportunistas y a algunos tumores. El virus que provoca el SIDA existe como dos tipos relacionados denominados HIV-1 y HIV-2. La presencia de HIV provoca en primer lugar la secreción del antígeno p24^{1,2}, seguida de la producción de anticuerpos específicos a HIV-1 o HIV-2.^{3,4,5}

FUNDAMENTOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo es una prueba inmunocromatográfica para la detección cualitativa del antígeno p24 y anticuerpos a HIV-1 y HIV-2.

El espécimen se añade a la almohadilla para la muestra. El espécimen se mezcla con un conjugado de anticuerpo anti-p24 biotinilado y coloides de selenio-antígeno. Esta mezcla continúa migrando por la fase sólida hasta la avidina, los antígenos recombinantes y los péptidos sintéticos inmovilizados en sitios de la ventana del paciente.

Si hay anticuerpos a HIV-1 y/o HIV-2 presentes en el espécimen, los anticuerpos se unen al coluido de selenio-antígeno y a los antígenos recombinantes y los péptidos sintéticos inmovilizados, formando una barra roja en el sitio de la ventana del anticuerpo HIV del paciente. Si los anticuerpos a HIV-1 y/o HIV-2 están ausentes, el coluido de selenio-antígeno pasa por la ventana del paciente y no se forma ninguna barra roja en el sitio de la ventana del anticuerpo HIV del paciente.

Si el antígeno p24 está presente en el espécimen, el antígeno se une a anticuerpo anti-p24 biotinilado de la almohadilla para la muestra y el anticuerpo anti-p24 del coluido de selenio y se une a una avidina inmovilizada formando una barra roja en el sitio de la ventana del antígeno HIV del paciente. Si el antígeno p24 no está presente, ambos anticuerpos, anti-p24 biotinilado y anti-p24 del coluido de selenio, pasa por el sitio de la ventana del paciente, y no se forma ninguna barra roja en el sitio de la ventana del antígeno HIV del paciente.

Para garantizar la validez del ensayo, se incorpora una barra de control del procedimiento al dispositivo para el ensayo.

CONTENIDO

Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo para 100 pruebas (7D2643)

• Tarjeta de prueba Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo, para 10 tarjetas (10 pruebas/tarjetas) recubiertas con antígeno HIV-1/2 recombinante y péptidos sintéticos, anticuerpos anti-p24 y avidina.

ACCESORIOS (necesarios pero no incluidos)

Para realizar pruebas en muestras de sangre total:

• **CHASE BUFFER** 1 botella de (2,5 ml) de buffer de detección (7D2243) preparado en buffer fosfato.

• Conservantes: agentes antimicrobianos.

Sangre total (ensayo por punción digital)

• **EDTA CAPILLARY TUBES** (7D2222)

Lanceta

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Sólo para su uso en diagnóstico *in vitro*.

Sólo para uso profesional.

Hoja de datos de seguridad disponible para usuarios profesionales previa solicitud.

PRECAUCIÓN:

Se deben seguir las prácticas^{7,8} sobre seguridad de la biotecnología adecuadas para la manipulación de especímenes y reactivos. Entre estas precauciones se incluyen entre otras:

- Lleve guantes.
- No pipeteo ningún material con la boca.
- No coma, beba ni fume, ni se aplique cosméticos ni manipule lentillas en la zona en las que se manipulan estos materiales.
- Limpie y desinfecte todas las salpicaduras de especímenes o reactivos con un desinfectante adecuado, como hipoclorito de sodio al 0,5%, u otro desinfectante adecuado.⁶
- Descontamine y elimine todos los especímenes, reactivos y otros materiales posiblemente contaminados de conformidad las normas locales.⁹

ALMACENAMIENTO

Las tarjetas de prueba y el buffer de detección de Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo se deben guardar a temperaturas entre 2 y 30 °C hasta la fecha de caducidad.

• Cuando se manipulan y guardan según las instrucciones, los componentes del kit se mantienen estables hasta la fecha de caducidad. No utilice los componentes del kit después de la fecha de caducidad.

• Vuelva a guardar inmediatamente las pruebas no utilizadas en la bolsa de aluminio que contiene el desecante presionando el cierre de un extremo a otro para cerrarla.

• No utilice dispositivos que se hayan mojado ni en caso de que el envoltorio se haya estropeado.

RECOGIDA DE ESPECÍMENES

Recogida de suero, plasma y sangre total por venopunción.

Las muestras humanas de suero, plasma y sangre total recogidas por venopunción se deben recoger de manera aséptica con objeto de evitar que se produzca hemólisis.

Separe cuanto antes el suero del coágulo o el plasma de las células del paquete para evitar que se produzca hemólisis.

NOTA: En el caso de especímenes de sangre total y plasma, se deben utilizar tubos de recogida EDTA.

Recogida de sangre total por punción digital⁶

Antes de recoger un espécimen por punción digital, coloque un tubo capilar EDTA en una superficie seca y limpia.

1. Seleccione la punta del dedo medio, anular o índice (la que esté menos encañada). Cuando sea necesario, caliente la mano con una toalla húmeda y tibia o agua tibia para aumentar el flujo sanguíneo.
2. Limpie la punta del dedo con alcohol; déjela secar al aire.
3. Coloque la mano con la palma hacia arriba. Coloque la lanceta en la punta del dedo, no en el centro. Oprima con firmeza la lanceta contra el dedo y puncione la piel. Elimine la lanceta en un recipiente adecuado para residuos de riesgo biológico con bordes afilados.
4. Seque la primera gota de sangre con una compresa de gasa estéril.
5. Sujete el dedo a menor altura que el codo y aplique varias veces una presión suave e intermitente en la base del dedo punccionado. Toque la punta del tubo capilar EDTA a la altura de la gota de sangre*. Evite la formación de burbujas de aire.

*Si se utilizan tubos capilares EDTA (N° 7D2222), llene el tubo de sangre hasta un nivel en medio de las dos líneas marcadas.

ALMACENAMIENTO DE ESPECÍMENES

• Los especímenes de suero y plasma se deben guardar a temperaturas entre 2 y 8 °C si la prueba se va a realizar en los siete (7) días siguientes a la recogida. Si la prueba se retrasa más de siete (7) días, el espécimen se debe congelar (a temperaturas de -20 °C o más frías).

• Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación. No se pueden utilizar especímenes que se hayan congelado y descongelado más de tres (3) veces.

• Todos los especímenes congelados se deben centrifugar a 10.000g durante cinco (5) minutos a temperatura ambiente. Con cuidado, retire la muestra de la prueba de 50 µl del líquido sobrenadante. Si se forma una capa de lípido en la superficie del líquido, asegúrese de que la muestra se toma del líquido transparente que queda debajo.

• La sangre total recogida por venopunción se debe guardar a temperaturas entre 2 y 8 °C si la prueba se va a realizar en los siete (7) días siguientes a la recogida. No congele los especímenes de sangre total.

• Si se guarda a una temperatura entre 2 y 8 °C, lleve el espécimen a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Mezcle bien el espécimen dándole la vuelta al tubo con cuidado justo antes de realizar la prueba.

• La sangre entera recogida por punción digital se debe someter inmediatamente a la prueba.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Se puede extraer el número de unidades de prueba que se desee de la tarjeta de 10 pruebas doblando y rasgando por la línea perforada.

NOTA:

- La extracción de las unidades de prueba debe empezar por la derecha de la tarjeta de pruebas para conservar el número de lote que aparece a la izquierda de la tarjeta de pruebas.
- El ensayo debe comenzar en las dos (2) horas siguientes a la retirada de la cubierta de aluminio protectora de cada prueba.

1. Retire la cubierta de aluminio protectora de cada prueba.

2. En el caso de muestras de suero o plasma:

a. Aplique 50 µl de muestra (con una pipeta de precisión) a la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).

b. Espere 20 minutos como mínimo (hasta 30 minutos como máximo) desde el momento de adición de la muestra y lea el resultado.

3. En el caso de muestras de sangre total (venopunción):

a. Aplique 50 µl de muestra (con pipeta de precisión) a la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).

b. Espere un minuto y aplique una (1) gota del buffer de detección a la almohadilla para la muestra.

c. Espere 20 minutos como mínimo (hasta 30 minutos como máximo) desde el momento de adición del buffer de detección y lea el resultado.

4. Para muestras de sangre total (punción en el dedo) usando un tubo capilar EDTA, realice las siguientes tareas:

a. Deposite el tubo capilar que contiene la muestra de sangre en la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).

b. Espere hasta que toda la sangre se transfiera del tubo capilar a la almohadilla para la muestra y aplique inmediatamente una (1) gota del buffer de detección a la almohadilla para la muestra.

Precaución: no eleve el tubo capilar de la muestra hasta que se transfiera toda la sangre, ya que podría formarse una burbuja que no permitiera la transferencia completa de la muestra e invalidara la prueba.

c. Espere 20 minutos como mínimo (hasta 30 minutos como máximo) desde el momento de la adición del buffer de detección y lea el resultado.

CONTROL DE CALIDAD

Para garantizar la validez del ensayo, se incorpora una barra de control del procedimiento al dispositivo, que se identifica con la etiqueta "Control". Si, al finalizar el ensayo, la barra de control no se ha vuelto de color rojo, el resultado de la prueba es no válido y es necesario volver a realizar la prueba de la muestra.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

POSITIVO A ANTICUERPOS (dos barras: la barra de control y la de anticuerpos)

Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "Control") y en la ventana de la barra de anticuerpos (identificada con la etiqueta "Ab") de la tira. Cualquier color claramente rojo (o rojo grisáceo) en la ventana del paciente se debe interpretar como un resultado positivo.

POSITIVO AL ANTÍGENO (p24) (dos barras: la barra de control y la de antígeno)

Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "Control") y en la ventana de la barra del antígeno (identificada con la etiqueta "Ag") de la tira. Cualquier color claramente rojo (o rojo grisáceo) en la ventana del paciente se debe interpretar como un resultado positivo. La presencia únicamente de una respuesta al antígeno indica que la infección se encuentra en una fase temprana. Se pueden proponer pruebas complementarias para hacer el seguimiento de la futura detección de anticuerpos prevista.

POSITIVO A ANTICUERPOS Y POSITIVO AL ANTÍGENO (p24) (TRES BARRAS: las barras Control, Ab y Ag)

Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (identificada con la etiqueta "Control"), la ventana de la barra de anticuerpos (identificada con la etiqueta "Ab") y la ventana de la barra del antígeno (identificada con la etiqueta "Ag") de la tira. Cualquier color claramente rojo (o rojo grisáceo) en las ventanas de la barra de anticuerpos y de la barra del antígeno se debe interpretar como un resultado positivo. La presencia de una respuesta al antígeno indica que la infección se encuentra en una fase temprana.

NEGATIVO (una barra)

Aparece una barra de color rojo en la ventana de control de la tira (identificada con la etiqueta "Control") y no aparece ninguna barra de color rojo en las ventanas del paciente de la tira (identificadas con la etiqueta "Ag" y "Ab").

NO VÁLIDO (ninguna barra)

Si no hay ninguna barra de color rojo en la ventana de control de la tira, aunque aparezca una barra de color rojo en una de las ventanas del paciente de la tira, el resultado es no válido y se debe repetir la prueba. Si el problema persiste, póngase en contacto con su distribuidor local o llame a Inverness Medical Technical Support al: +44 (0) 1234 835959, o envíe un mensaje de correo electrónico a: product.support@invermed.com.

Barra Control
Barra Ag
Barra Ab
Positivo a anticuerpos

Barra Control
Barra Ag
Barra Ab
Positivo a antígeno

Barra Control
Barra Ag
Barra Ab
Positivo a antígeno y anticuerpos

Barra Control
Barra Ag
Barra Ab
Negativo

Barra Control
Barra Control
Barra Ag
Barra Ag
Barra Ab
Barra Ab
No válido

NOTAS:

- El resultado de la prueba es positivo aunque las barras del paciente sean de un color más claro o más oscuro que la barra de control.
- Si un resultado de prueba no válido se produce varias veces o si desea obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su distribuidor local o llame a Technical Support, como se ha descrito anteriormente.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

• Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo se ha diseñado para detectar simultáneamente anticuerpos a HIV-1 y/o HIV-2 y al antígeno HIV p24 en muestras humanas de suero, plasma y sangre total. Es posible que otros fluidos corporales o los especímenes de un pool no arrojen resultados exactos, por lo que no deben utilizarse.

• La intensidad de las barras Ab y Ag no está correlacionada con la titulación del anticuerpo y el antígeno del espécimen.

• Ninguna prueba ofrece la certeza absoluta de que un espécimen no contiene niveles bajos de antígeno HIV p24 y/o anticuerpos a HIV-1 y HIV-2 como los que están presentes en una fase muy temprana de la infección. Un resultado negativo en ambos casos, anticuerpos a HIV y antígeno p24, no descarta la posibilidad de exposición o infección con virus HIV-1 o HIV-2. Un resultado positivo en anticuerpos a HIV con un resultado negativo en antígeno p24 no descartan la posibilidad de infección aguda.

• Antes de realizar un diagnóstico, se deben confirmar los resultados positivos con otro método, y estos resultados se deben valorar a la luz de la evaluación clínica global.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento de Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo se ha determinado probando especímenes de donantes de sangre aléatorios, de pacientes con infección de HIV, pacientes con riesgo de infección de HIV o incluidos en otras categorías clínicas y paneles de seroconversión comerciales. Las evaluaciones de rendimiento se llevaron a cabo en nueve estudios clínicos en Europa, África, Asia y Sudamérica.

SENSIBILIDAD

La sensibilidad se ha evaluado probando muestras positivas de anticuerpos a HIV, paneles de seroconversión comerciales y especímenes de pacientes con infección de HIV primaria (aguda).

1. Especímenes positivos a anticuerpos del HIV:

Tipos	Número de especímenes a prueba	Positivo por Determine® HIV 1/2 Ag/Ab Combo	Sensibilidad
HIV-1	885	885	100.00 %
Grupo O de HIV-1	7	7	100.00 %
Subtipos no B de HIV-1*	154	154	100.00 %
HIV-2	133	133	100.00 %
Total	1179	1179	100.00 %

*Subtipos: A, C, D, F, G, H, J, K y CRF AE, AG, AD, BD, 06, 09 y 011.

Se realizaron pruebas en un total de 1179 especímenes positivos de anticuerpos a HIV confirmados (tabla I). Se ha calculado que la sensibilidad del diagnóstico de Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo en esta población de especímenes sea del 100%.

Comparación de resultados obtenidos con Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo con especímenes emparejados de suero, plasma y sangre total (venopunción y punción digital).

Nº de especímenes emparejados a prueba	Especímenes				Correlación entre matrices
	Tipo de espécimen				
	Suero	Plasma	Sangre total (venopunción)	Sangre total (punción digital)	
91	91	91	91	-	100 %
20	-	-	20	20	100 %
9	-	9	9	-	100 %
22	22	22	-	22	100 %
Número total de especímenes a prueba					
142	113	122	120	42	100 %

Varios especímenes (emparejados):

Se realizaron pruebas de especímenes positivos de un total de 142 individuos de África, Europa y Sudamérica. Se obtuvieron varios especímenes (emparejados) de varios de estos donantes. De estos 142 individuos, se obtuvieron 113 especímenes de suero, 122 especímenes de plasma, 120 especímenes de sangre total (venopunción) y 42 especímenes de sangre total (punción digital) en diversas combinaciones.

Especímenes de sangre total (venopunción):

Se realizaron pruebas en 120 especímenes de sangre total (venopunción). De estos especímenes, 91 estaban emparejados con suero y plasma, 9 pares estaban emparejados con plasma y 20 pares estaban emparejados con sangre total (punción digital).

Especímenes de sangre total (punción digital):

Se realizaron pruebas en 42 especímenes de sangre total (punción digital). De estos especímenes, 22 estaban emparejados con suero y plasma 20 pares estaban emparejados con sangre total (venopunción).

Los resultados obtenidos de todas las matrices de especímenes mostraron una correlación del 100%, demostrando así que Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo arroja resultados idénticos para estos tipos de matrices de especímenes.

2. Especímenes de seroconversión a HIV:

Tabla III Paneles de seroconversión

33 paneles de seroconversión	Resultados de Determine® HIV 1/2 Ag/Ab Combo en comparación con Determine® HIV 1/2		
	Detección temprana (una extracción como mínimo)	Detección equivalente (misma muestra reconocida como positiva)	Detección tardía
Número de paneles de seroconversión	23	10	0

Se estudió un total de 33 paneles de seroconversión y los resultados de Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo se compararon con los resultados de Determine® HIV-1/2 con marca CE (tabla III).

Con la excepción de un panel, hubo como mínimo un espécimen y hasta cinco (5) especímenes reactivos en la barra Ag, y reconocidos como infección aguda (verificados como positivos en Ag según la hoja de datos del panel).

Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo detectó infección de HIV entre 2 y 20 días antes que la prueba de anticuerpos de Determine® HIV-1/2 (3ª generación), en función del panel sometido a pruebas.

3. Especímenes con infección de HIV primaria:

Se realizaron pruebas en un total de 117 especímenes de pacientes con infección de HIV primaria (antes o durante la seroconversión). Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo detectó 108 (92.31%) de las muestras en comparación con EIA comercial de 4ª generación con marca CE.

4. La sensibilidad analítica de Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo se evaluó realizando pruebas en el panel EFS Ag HIV (panel HIV Ag del French Blood Establishment). Se obtuvo un límite de detección de 25 pg/ml.

También se realizaron pruebas de la sensibilidad analítica con proteína nativa HIV-1 p24 purificada (ABI, Maryland, EE. UU.) con un límite de detección de 12.5 pg/ml.

ESPECIFICIDAD

Se realizaron pruebas en un total de 2343 especímenes confirmados negativos de suero, plasma o sangre total con Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo y se determinó la especificidad para las bandas de pruebas de anticuerpos y de antígenos (tabla IV). En ambas pruebas, la especificidad es mayor del 99%.

Tabla IV Especificidad de Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo

Población	Número de especímenes a prueba	Negativa por banda de prueba Ab de Determine® HIV 1/2 Ag/Ab Combo	Especificidad (% de la banda de prueba de anticuerpos)	Negativa por banda de prueba Ag de Determine® HIV 1/2 Ag/Ab Combo	Especificidad (% de la banda de prueba de antígeno)
Especímenes seronegativos	1783	1769	99.21 %	1776	99.61 %
Mujeres embarazadas	200	200	100.00 %	199	99.50 %
Condiciones patológicas distintas al HIV y sustancias que pueden interferir*	360	356	98.89 %	360	100.00 %
Total	2343	2325	99.23 %	2335	99.66 %

*Infecciones en consumidores de drogas IV, factor reumatoide, cáncer, cirrosis alcohólica, anticuerpos antinucleares (ANA), colesterol alto, lipemias, bilirrubina alta, hemolizadas, IgG anti-ratón y otras infecciones víales o bacterianas, multiparas, (HCV, HCV, HTLV, CMV, Toxo IgG, sífilis, HSV 1/2, EBV, pacientes vacunados contra la gripe y clamidia IgG/IgM).

Se realizaron pruebas en un total de 1783 especímenes negativos (incluidos en la tabla IV) en nueve centros clínicos distintos de cuatro importantes zonas geográficas y se determinó la especificidad para las bandas de pruebas de anticuerpos y de antígenos (tabla V).

Tabla V Comparación de la especificidad de Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo por zona geográfica

Zona	Número de especímenes a prueba	Negativa por banda de prueba Ab de Determine® HIV 1/2 Ag/Ab Combo	Especificidad (% de la banda de prueba de anticuerpos)	Negativa por banda de prueba Ag de Determine® HIV 1/2 Ag/Ab Combo	Especificidad (% de la banda de prueba de antígeno)
Europa	237	236	99.58 %	237	100.00 %
África	1383	1370	99.06 %	1376	99.49 %
Asia	82	82	100.00 %	82	100.00 %
Sudamérica	81	81	100.00 %	81	100.00 %
Total	1783	1769	99.21 %	1776	99.61 %

Tabla VI Comparación de la especificidad de Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo en especímenes de sangre total y emparejados con suero y plasma

Nº de individuos	Suero	Plasma	Sangre total (venopunción)
64	64	64	64
20	-	20	20
		Total	
84	64	84	84

Varios especímenes (emparejados):

Se realizaron pruebas en especímenes seronegativos de un total de 84 individuos de África y Sudamérica. Se obtuvieron varios especímenes (emparejados) de varios de estos donantes. Se realizaron pruebas en un total de 84 especímenes de sangre total (venopunción). De estos especímenes, 64 estaban emparejados con suero y plasma y 20 pares estaban emparejados con plasma.

Los resultados obtenidos de todas las matrices de especímenes mostraron una correlación del 100%, demostrando así que Determine® HIV-1/2 Ag/Ab Combo arroja resultados idénticos para estos tipos de matrices de especímenes.

Línea de consulta (consulte la última página)</