

USO PREVISTO

La prueba rápida del VIH EXACTO[®] PRO (sangre completa/suero/plasma) es una inmunocromatografía rápida para la detección cualitativa de anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1 (incluido el subtipo O) y tipo 2 en sangre completa, suero o plasma para ayudar en el diagnóstico de la infección por el VIH.

RESUMEN

El VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) es el agente que causa el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida). El virión está rodeado por una envoltura lipídica que se deriva de la membrana de la célula anfitriona y en esta envoltura hay varias glucoproteínas víricas. Cada virus contiene dos copias de ARN genómico de sentido positivo. El VIH-1 se ha aislado de pacientes con sida y de complejos relacionados con el sida, así como a partir de personas sanas con posible riesgo elevado de padecer el sida¹. El VIH-1 consta del subtipo M y el subtipo O. En 1990 se identificaron por primera vez cepas del VIH-1 muy divergentes que se agruparon de forma provisional como subtipo O, ya que esta variedad tiene marcadores glucoproteicos similares.

al VIH-1, aunque con una ligera variación respecto al marcador proteico. Aunque raras veces se ha comparado con el VIH-1 y el VIH-2, las infecciones causadas por el subtipo O se han identificado hasta el momento en África (Camerún), Francia y Alemania. El VIH-2 se ha aislado de pacientes con sida del oeste de África y de persona seropositivas asintomáticas². El VIH-1 (incluido el subtipo O) y el VIH-2 inducen respuestas inmunitarias³. Las detecciones de anticuerpos contra el VIH en suero, plasma o sangre completa es la forma más eficaz y frecuente de determinar si una persona ha estado expuesta al VIH y de detectar la presencia del VIH en la sangre y hemoderivados. A pesar de las diferencias en sus características biológicas, en sus actividades serológicas y en las secuencias genómicas, el VIH-1 (incluido el subtipo O) y el VIH-2 muestran una fuerte reactividad antigénica cruzada^{4,5}.

La prueba del VIH EXACTO[®] PRO es una prueba rápida para detectar de forma cualitativa la presencia de anticuerpos contra el VIH tipo 1 (incluido el subtipo O) y tipo 2 en muestras de sangre completa, suero o plasma.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba rápida del VIH EXACTO[®] PRO es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección de anticuerpos contra el VIH-1 (incluido el subtipo O) y el VIH-2 en sangre completa, suero o plasma. La membrana está recubierta previamente con antígenos recombinantes del VIH en la zona de la línea de prueba (T). La línea de prueba (T) está recubierta previamente con antígeno del VIH-1 (incluido el antígeno del subtipo O) y con antígeno del VIH-2. Durante la realización de la prueba, las muestras de sangre completa, suero o plasma reaccionan con las partículas recubiertas del antígeno del VIH en la tira reactiva de la prueba. La mezcla se desplaza sobre la membrana cromatográficamente por acción capilar y reacciona con el antígeno recombinante del VIH de la membrana en la zona de la línea de la prueba. Si la muestra contiene anticuerpos contra el VIH-1 (incluido el subtipo O) o el VIH-2, aparecerá una línea coloreada en la zona de la línea de prueba (T), lo que indica un resultado positivo. Si la muestra no contiene anticuerpos contra el VIH-1 (incluido el subtipo O) o el VIH-2, en la zona de la línea de prueba (T) no aparecerá ninguna línea coloreada, lo que indica un resultado negativo. Como control de procedimiento, aparecerá siempre una línea coloreada en la zona de la línea de control, lo que indica que la absorción de la membrana ha sido correcta.

REACTIVOS

La prueba contiene partículas recubiertas de antígenos recombinantes del VIH tipo 1 (incluido el subtipo O) y tipo 2, y tapizando la membrana antígenos recombinantes del VIH tipo 1 (incluido el subtipo O) y tipo 2.

MATERIAL SUMINISTRADO

Bolsa de plástico individual que incluye 1 artículo de cada de la siguiente lista:

- 1 casete para la prueba
- 1 cuentagotas individual con tampón
- 1 recipiente invertido
- 1 toallita alcohólica
- 1 apósito
- 1 lanceta
- 1 compresa de gasa estéril

También se incluye 1 manual en el kit.

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- Viales para la obtención de muestras
- Cronómetro
- Pipeta de laboratorio de 5 µl

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar dentro del envase sellado a temperatura ambiente o refrigerado (2 - 30 °C). La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase sellado. La prueba debe permanecer dentro del envase sellado hasta su uso. NO CONGELAR. No utilizar después de la fecha de caducidad.

PRECAUCIONES

- Solo para diagnóstico profesional in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en la zona donde se manipulan los casetes de la prueba o las muestras.
- No utilizar la prueba si el sobre está dañado.
- No intercambiar ni mezclar reactivos (casetes y tampones) de diferentes lotes.
- Manipular las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Seguir las medidas de precaución establecidas frente a peligros microbiológicos durante el análisis, así como los procedimientos estándar para la adecuada eliminación de las muestras.
- Llevar ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección cuando se estén analizando las muestras.
- La prueba utilizada deberá desecharse según la legislación local.
- La humedad y la temperatura pueden afectar de forma perjudicial a los resultados.

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

La prueba rápida del VIH EXACTO[®] PRO puede realizarse con sangre completa (por venopunción o punción digital), suero o plasma.

- **Para extraer muestras de sangre completa por punción digital:**



1. Desinfecte la yema del dedo seleccionado (corazón o anular) con la toallita alcohólica. Séquelo con la gasa estéril.
2. Realice la punción en la piel con la lanceta en la zona desinfectada.



3. Frote la mano con suavidad desde la muñeca hacia la palma y hasta el dedo para formar una gota de sangre redonda en la zona de punción.
4. Recoja la gota de sangre con el recipiente invertido. Toque con el extremo del recipiente invertido la zona en la que la lanceta ha pinchado el dedo. El recipiente invertido se llenará con 5 µl de sangre.

Nota: la prueba debe realizarse inmediatamente después de la extracción de las muestras.

• Muestras de sangre venosa completa, suero o plasma:

Utilice solo muestras claras y no hemolizadas. Separe el suero o el plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Para evitar la coagulación de la sangre venosa, se pueden utilizar los siguientes anticoagulantes: K2 EDTA, citrato sódico, citrato potásico, heparina sódica, heparina de litio y oxalato sódico.

CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para la obtención de óptimos resultados, las muestras se deben analizar de inmediato.

Sangre completa capilar:

La sangre completa obtenida por punción digital debe analizarse de inmediato.

Sangre completa venosa:

No deje la muestra a temperatura ambiente durante más de 8 horas. Para un tiempo prolongado, las muestras de sangre completa obtenidas mediante venopunción deben conservarse entre 2 y 8 °C hasta un máximo de 2 días después de la obtención. No congele las muestras de sangre completa.

Suero y plasma:

No deje la muestra a temperatura ambiente durante más de 8 horas. Para un tiempo prolongado, las muestras deben conservarse entre 2 °C y 8 °C hasta un máximo de 3 días. Para una conservación a largo plazo, las muestras de suero y plasma deben mantenerse por debajo de -20 °C durante 6 meses.

Antes de realizar el análisis las muestras deben estar a temperatura ambiente. Las muestras congeladas deben descongelarse por completo y mezclarse bien antes de realizar el análisis. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidas veces. Si las muestras deben transportarse, deberán embalarse de acuerdo con la normativa local en materia de transporte de agentes etiológicos.

PROCEDIMIENTO

Deje que dispositivo, muestra y el cuentagotas con el tampón alcancen la temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) antes del análisis.

1. Deje que el sobre alcance la temperatura ambiente antes de abrirlo. Retire el casete de la prueba del sobre sellado y utilícelo lo antes posible.
2. Coloque el casete en una superficie nivelada y limpia.

a. Para la muestra de sangre completa extraída por punción digital:

Después de obtener la sangre en el recipiente invertido, ponga la gota de sangre situada en la parte inferior del recipiente invertido en contacto con el pocillo cuadrado Blood (sangre) (zona de la muestra en el casete de la prueba) para transferir la sangre.

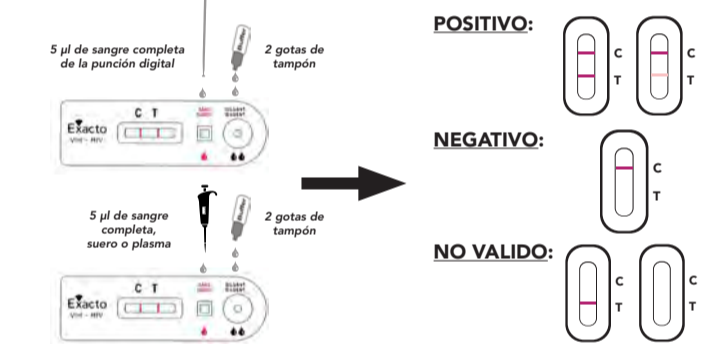
b. Para la muestra de sangre completa extraída por venopunción:

Obtenga 5 µl de sangre completa venosa con las pipeta de laboratorio ajustada a 5 µl. Mantenga la pipeta de laboratorio de 5 µl en posición vertical y transfiera 5 µl de sangre completa al pocillo cuadrado Blood (Sangre).

c. Para la muestra de suero o plasma:

Recoger 5 µl de suero o plasma con la pipeta de laboratorio ajustada a 5 µl. Mantenga la pipeta de laboratorio en posición vertical y transfiera 5 µl de suero o plasma al pocillo cuadrado Blood (Sangre).

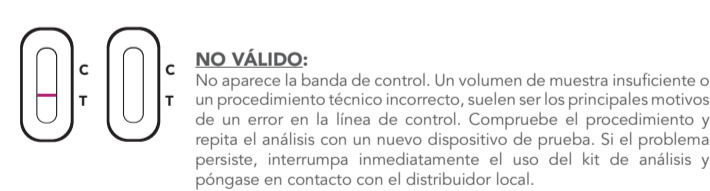
3. Añada 2 gotas de tampón (aproximadamente 80 µl) al pocillo redondo Diluent (Diluyente) e inicie el cronómetro. Consulte la ilustración que aparece más abajo.
4. Espere hasta que aparezca la línea o las líneas coloreadas. Lea los resultados a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- POSITIVO:** Aparecen dos bandas coloreadas diferentes. Además de una banda en la zona de la línea de control (C) que debería aparecer siempre, aparece una banda coloreada en la zona de la línea de prueba (T). *
- NEGATIVO:** Aparece una banda coloreada en la zona de control (C). No aparece ninguna banda coloreada en la zona de la línea de prueba (T).
- NO VÁLIDO:** No aparece la banda de control. Un volumen de muestra insuficiente o un procedimiento técnico incorrecto, suelen ser los principales motivos de un error en la línea de control. Compruebe el procedimiento y repita el análisis con un nuevo dispositivo de prueba. Si el problema persiste, interrumpa inmediatamente el uso del kit de análisis y póngase en contacto con el distribuidor local.

*Nota : la intensidad del color en la zona de la línea de prueba (T) variará dependiendo de la concentración de anticuerpos contra el VIH presentes en la muestra. Por tanto, cualquier tono de color en la zona de la línea de la prueba (T) se debe considerar positivo.



CONTROL DE CALIDAD

En la prueba se incluye un control del procedimiento. La aparición de una banda coloreada en la zona de control (C) es un control interno del procedimiento. Confirma que la membrana ha absorbido la muestra adecuadamente y que la técnica del procedimiento es la correcta. Con este casete de ensayo, no se suministran muestras control; sin embargo, se recomienda que se realicen análisis de controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba y garantizar un rendimiento adecuado.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. La prueba rápida del VIH EXACTO[®] PRO es solo para diagnóstico in vitro. La prueba debe utilizarse para la detección de anticuerpos contra el VIH solo en muestras de sangre completa, suero o plasma. Ni el valor cuantitativo ni la cinética de los anticuerpos contra el VIH podrán determinarse mediante este análisis cualitativo.
2. La prueba rápida del VIH EXACTO[®] PRO solo indicará la presencia de anticuerpos contra el VIH en la muestra y no deberá utilizarse como único criterio para determinar el diagnóstico de infección por VIH.
3. Como confirmación, se deben realizar más análisis de las muestras según las directrices de las autoridades sanitarias locales, como ensayos ELISA o Western Blot.
4. Al igual que con todas las pruebas rápidas, los resultados se deberán estudiar por el facultativo junto con el resto de información clínica disponible.
5. Esta prueba es solamente a efectos de detección.
6. Si el resultado de la prueba es negativo y persisten los síntomas clínicos, se recomienda realizar una prueba adicional utilizando otros métodos biológicos. Un resultado negativo no descarta en ningún momento la posibilidad de una infección por VIH.

CARACTERÍSTICAS DE EJECUCIÓN

• Sensibilidad y Especificidad

Método	PRUEBA DEL VIH EXACTO [®] PRO		Correlación	
	Positivo	Negativo		
Positivo	VIH-1 (suero/sangre completa)	567	0	> 99,99 % 567/567
	VIH-2 (plasma/sangre completa)	110	0	> 99,99 % 110/110
	Total	677	0	> 99,99 % 677/677
	Total	677	0	> 99,99 % 677/677
Negativo	Donaciones de sangre* (suero/sangre completa)	2	1498	99,87 % 1498/1500
	Negativo clínico (suero/plasma/sangre completa)	0	200	> 99,99 % 200/200
	Muestras negativas de mujeres embarazadas (suero/sangre completa)	0	200	> 99,99 % 200/200
	Muestras posiblemente interferentes (plasma/sangre completa)	0	100	> 99,99 % 100/100
Total	2	1998	99,90 % 1998/2000	
Resultados totales	679	1998	99,93 % 2675/2677	

* 1000 muestras analizadas en suero y sangre completa, 500 muestras solo en sangre completa

Sensibilidad relativa = 677/677 = 99,99 % (IC* 95 %: 99,5 %--99,99 %);
Especificidad relativa = 1998/2000 = 99,90 % (IC* 95 %: 99,4 %--99,99 %);
Fiabilidad = (677+1998) / (677+2000) = 99,93 % (IC* 95 %: 99,4 %--99,9 %).
 *Intervalos de confianza

• Límite de detección

- **Para muestra positiva por VIH-1:** Cuando se compara con la prueba ACON ELISA, el nivel mínimo detectable del producto cuando se utiliza una muestra diluida del VIH es un ELISA OD de 0,890 (correspondiente a una dilución de 1:1024).
 - **Para muestra positiva por VIH-2:** Cuando se compara con la prueba ACON ELISA, el nivel mínimo detectable del producto cuando se utiliza una muestra diluida del VIH-2 es un ELISA OD de 0,200 (correspondiente a una dilución de 1:512).
- Es superior al nivel detectable de ELISA (correspondiente a una dilución de 1:256).

• Precisión

- **Intraensayo:** La precisión intraanálisis se ha determinado usando 10 replicados de cuatro muestras: una negativa, una positiva baja, una positiva media y una positiva alta. Los valores negativo, positivo bajo, positivo medio y positivo alto se identificaron correctamente en > 99% de los casos.
- **Interensayo:** La precisión interensayo se determinó mediante 10 ensayos independientes en las mismas cuatro muestras: una negativa, una positiva baja, una positiva media y una positiva alta. Se han analizado tres lotes diferentes de la prueba rápida del VIH EXACTO[®] PRO en un periodo de 3 días con muestras negativa, positiva baja, positiva media y positiva alta. En > 99% de los casos, las muestras se identificaron correctamente.

• Reacción cruzada

Se ha realizado un estudio de reactividad cruzada de la prueba del VIH EXACTO[®] PRO. En este estudio se muestra que no hay reacción cruzada con: Muestras positivas de HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, anti-T.pallidum, anti-VHC, anti-VHA, anti-HTLV, anti-VHE, anti-H.pylori, HAMA, MONO, anti-CMV, antirrubéola y antitoxoplasmosis, y enfermedad autoinmune, muestras diabéticas, hiperhemoglobinemia, hiperlipidemia y muestras oncológicas a los 20 minutos. Si se detectó reactividad cruzada con muestras positivas de factor reumatoide, EBV IgM y HBsAg.

• Sustancias interferentes

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

Acetaminofeno: 20 mg/dl	Cafeína: 20 mg/dl
Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dl	Ácido genticico: 20 mg/dl
Ácido ascórbico: 2 g/dl	Albumina: 2 g/dl
Creatinina: 200 mg/dl	Hemoglobina 1,1 g/dl
Bilirrubina: 1 g/dl	Ácido Oxálico: 600 mg/dl

Ninguna de las sustancias a la concentración analizadas interfirieron en el ensayo.

• Evaluación clínica

En el año 2015 un grupo de profesionales realizó un estudio en un hospital regional con 292 muestras de sangre completa por punción digital. Este estudio se realizó en paralelo con otras dos pruebas rápidas del VIH comercializadas. El resultado se muestra en la siguiente tabla:

PRUEBA DEL VIH EXACTO [®] PRO	Sensibilidad	IC del 95 %	Especificidad	IC del 95 %
Prueba rápida A	100 %	-	100 %	-
Prueba rápida B	99,5 %	[98,5-100]	100 %	-
Prueba rápida B	99,1%	[97,6-100]	100 %	-

BIBLIOGRAFÍA

1. 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
2. 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 functional transactivator (tat) gene. Nature* (1987) 328:548-550
3. Caetano JA *Immunologic aspects of HIV infection. Acta Med Port* (1991) 4 Suppl 1:52S-58S
4. 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): 42-48
5. Travers, K, Mboup, S, Marlink, R, Gueye-Nidaye, A, Siby, T, Thior, I, Traore, I, Dieng-Sarr, A, Sankale, JL and Mullins, C. *Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. Science* (1995) 268:1612-1615
6. Greenberg, AE, Wiktor, SZ, DeCock, KM, Smith, P, Jaffe HW and Dondero, TJ, Jr. *HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection. Science* (1996) 272:1959-196
7. Heidi Hopkins, Wellington Oyibo, Jennifer Luchavez, Mary Lorraine Mationg, Caroline Asimwe, Audrey Albertini, Iveth J González, Michelle L Gatton, David Bell4. *Blood transfer devices for malaria rapid diagnostic tests: evaluation of accuracy,safety and ease of use. Malaria Journal* 2011, 10:30. <http://www.malariajournal.com/content/10/1/30>

SÍMBOLOS

	Consultar las instrucciones de uso		Código de lote
	Producto sanitario de diagnóstico in vitro		Fabricante
	Límite de temperatura		No reutilizar
	Suficiente para		N.º de catálogo
	Fecha de caducidad		Diluyente