



WL Check

HIV 1+2

Para la detección de anticuerpos anti-HIV-1, anti-HIV-1 grupo O y anti-HIV-2 en suero, plasma y sangre entera

SIGNIFICACION CLINICA

Los virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1 y HIV-2) son los agentes causales del Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Estos retrovirus son transmitidos por la exposición a ciertos fluidos corporales infectados, principalmente secreciones genitales y sangre o productos contaminados derivados de la sangre y por pasaje a través de la placenta. En individuos infectados con estos virus aparecen anticuerpos como respuesta del sistema inmunitario a la invasión viral. La detección de dichos anticuerpos es utilizada como herramienta de diagnóstico.

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE.UU. (CDC), en su iniciativa "Advancing HIV Prevention" (AHP) destacan la importancia de la utilización de pruebas rápidas de detección del HIV para facilitar el acceso al diagnóstico precoz en zonas de alta prevalencia, en individuos de alto riesgo o en zonas donde otros métodos de diagnóstico como ELISA, Western Blot o amplificación de ácidos nucleicos no estén disponibles. También son de gran utilidad en el momento del parto, especialmente para el diagnóstico de mujeres que no hayan sido controladas durante el embarazo.

Por otra parte, estas pruebas rápidas constituyen una herramienta diagnóstica que puede desempeñar un papel importante en campañas de prevención y diagnóstico en entornos clínicos y no clínicos, facilitando de esta manera, la detección precoz de la infección.

FIN Y USO

WL Check HIV 1+2 es una prueba rápida que detecta conjuntamente la presencia de anticuerpos anti-HIV-1, anti-HIV-1 grupo O y anti-HIV-2, destinada a diagnóstico clínico o estudios de campo. No está destinada como prueba de tamizaje de anticuerpos anti-HIV 1 y 2 para donantes de sangre y derivados.

FUNDAMENTOS DEL METODO

WL Check HIV 1+2 es un ensayo inmunocromatográfico "in vitro", de lectura visual, para la detección cualitativa de anticuerpos contra los virus HIV-1 y HIV-2 en suero, plasma y sangre entera. La prueba consta de un cassette plástico que contiene:

- una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con antígenos recombinantes para HIV-1 (gp41) y HIV-2 (gp36) en la zona de prueba "T".
- un parche impregnado con antígenos recombinantes específicos para HIV-1 (gp41) y HIV-2 (gp36) conjugados a oro coloidal.

La muestra y el buffer se agregan en el pocillo de muestra "S" solubilizando y mezclándose con el conjugado de antígenos recombinantes. Seguidamente, esta mezcla migra por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa. Si la muestra es reactiva, los anticuerpos anti HIV-1 y HIV-2 presentes, formarán un complejo con los antígenos conjugados a oro coloidal. Este complejo se unirá posteriormente a los antígenos inmovilizados en la zona de prueba "T" de la membrana de nitrocelulosa, formando así una línea de color rosa-rojo púrpura. La ausencia de dicha línea indica un resultado negativo. Como control de procedimiento, la prueba incluye una zona de control "C" de color celeste que cambia a color rosa-rojo púrpura tras el paso de la muestra. La ausencia de esta línea invalida los resultados.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: cassette plástico compuesto por una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con antígenos recombinantes específicos para HIV-1 y HIV-2 y conjugado de antígenos recombinantes. Listo para usar.

B. Reactivo B: buffer borato de sodio 15 mM, azida 0,95 g/L, agente tensoactivo, pH = 9,1. Listo para usar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipeta automática para medir los volúmenes indicados.
- Dispositivo de 20 uL descartable para toma de sangre entera capilar (sólo provisto en algunas presentaciones)
- Tips descartables.
- Reloj alarma o cronómetro.
- Material para extracción de muestra.
- Guantes descartables, guardapolvo, protección ocular.
- Contenedor para el descarte de residuos biológicos.
- Hipoclorito de sodio.

PRECAUCIONES

- Leer el manual de instrucciones de manera completa antes de realizar el ensayo y seguir las instrucciones cuidadosamente.
- No realizar la prueba si el envase está dañado.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de vencimiento indicada en el envase.
- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- Esta prueba proporciona un resultado cualitativo y visual. Es necesaria una buena fuente de luz para la lectura de los resultados.
- No mezclar reactivos de diferentes lotes.
- No utilizar reactivos de otro origen.

- No tocar la membrana de nitrocelulosa con los dedos.
- Seguir las prácticas de seguridad biológica al utilizar muestras y reactivos:
 - . Manipular todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.
 - . Utilizar guantes, guardapolvo y protección ocular.
 - . No pipetear con la boca.
 - . No comer, beber, fumar, utilizar maquillaje ni manejar lentes de contacto en los lugares donde se trabaje con estos materiales.
 - . Limpiar y desinfectar las salpicaduras de muestra o reactivos usando hipoclorito sódico (concentración final 5%) u otro desinfectante adecuado. Para inactivar el material empleado autoclavar durante 1 hora a 121°C.
- Evitar la formación de burbujas en el pocillo de muestra "S" tanto al colocar la muestra como el Reactivo B. Al dispensar el Reactivo B descartar cualquier gota con burbuja.
- Durante la realización de la prueba, colocar el cassette sobre una superficie limpia, plana y sin vibraciones.
- No agitar el cassette durante la realización del ensayo.
- El cassette y el dispositivo para toma de sangre entera capilar, son descartables. No reutilizar. Desechar en recipientes destinados a residuos con riesgo biológico.
- El Reactivo B posee azida sódica en bajas concentraciones como conservante.
- Los reactivos y las muestras deben ser descartados de acuerdo a la normativa vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

El kit es estable a 2-30°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar. En caso de almacenar refrigerado, asegurarse que el sobre alcance temperatura ambiente antes de ser utilizado, de lo contrario se favorecerá la humectación del contenido.

El cassette debe permanecer en su sobre original sellado. No abrir el envoltorio hasta el momento de usar.

MUESTRA

Suero, plasma y sangre entera obtenida por punción venosa o punción capilar

a) Recolección: recoger las muestras asépticamente y de manera tal de evitar hemólisis.

- Suero: obtenido de sangre entera sin anticoagulantes. Separar el suero del coágulo inmediatamente para evitar hemólisis. Puede utilizarse suero obtenido en tubos con acelerador y gel separador.
- Plasma: utilizar plasma recogido con EDTA, citrato o heparina.
- Sangre entera (punción venosa): utilizar sangre recogida con EDTA, citrato o heparina.
- Sangre entera (punción capilar): utilizar sangre recogida con el dispositivo descartable (sólo provisto en algunas presentaciones). Realizar la prueba inmediatamente. En caso de utilizar otro dispositivo, es responsabilidad del usuario validar el dispositivo de toma de sangre entera capilar.

b) Estabilidad y almacenamiento:

- Suero y plasma: conservar a 2-10°C. En caso de no realizar la prueba dentro de los 5 días conservar la muestra a -20°C.

No es recomendable realizar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento. Esto puede generar resultados erróneos. En caso de usar muestras congeladas, éstas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de usar.

- Sangre (punción venosa): puede almacenarse hasta 3 días entre 2-10°C. No congelar.
- Sangre (punción capilar): utilizar inmediatamente. No congelar.

c) Sustancias Interferentes: en sueros y plasmas enriquecidos, no se ha observado interferencia por:

- Hemólisis: hasta 1,1 g/dL de hemoglobina.
- Lipemia: hasta un equivalente de triglicéridos de 1500 mg/dL, tras enriquecer con Intralipid®.
- Bilirrubina: hasta 30 mg/dL.
- Acido ascórbico: hasta 50 mg/dL.

d) Transporte: si las muestras deben ser transportadas, embalar de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

PROCEDIMIENTO

1- Los reactivos y las muestras deben estar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de utilizar.

2- Extraer el cassette de su sobre sellado inmediatamente antes de utilizar.

3- Colocar el cassette sobre una superficie limpia, plana y sin vibraciones.

4- Agregar la muestra sobre la superficie absorbente del pocillo de muestra "S".

PARA SUERO O PLASMA

- Colocar 10 uL con micropipeta automática.
- Esperar 10-15 seg. hasta que se absorba la muestra.
- Agregar 3 gotas (100 uL) de Reactivo B en el pocillo de muestra "S".
- Iniciar el cronómetro.

PARA SANGRE ENTERA

- Colocar 20 uL con micropipeta automática.*
- Esperar 10-15 seg. hasta que se absorba la muestra.
- Agregar 3 gotas (100 uL) de Reactivo B en el pocillo de muestra "S".
- Iniciar el cronómetro.

Nota: *en caso de utilizar sangre entera capilar, usar el dispositivo de 20 uL descartable (sólo provisto en algunas presentaciones)

5- En cualquiera de los casos, leer los resultados entre los 20 y 30 minutos. No leer pasado los 30 minutos ya que pueden obtenerse resultados erróneos. Algunas muestras positivas reaccionan inmediatamente mientras que otras lo hacen más lentamente dentro del tiempo de lectura indicado. Debido a características particulares de algunas muestras, el color de fondo de la membrana puede quedar ligeramente rosado sin afectar la interpretación de los resultados.

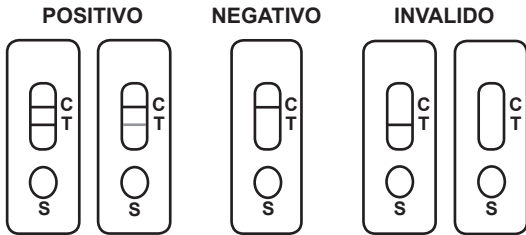
CRITERIOS DE VALIDACION DE LA PRUEBA

- El cassette cuenta con una línea de color celeste en la zona de control "C" que permite identificar la determinación **WL Check HIV 1+2** e indica que los componentes de la prueba

están presentes y activos.

- Al realizar el ensayo la línea de color celeste debe cambiar a color rosa-rojo púrpura. Este cambio de color confirma que se ha agregado el volumen adecuado de muestra, que su migración fue apropiada y que la realización del procedimiento fue correcta.
- Es responsabilidad del usuario efectuar el Control de Calidad del equipo de acuerdo a las normas locales vigentes.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS



Resultado Positivo (2 líneas): se observan 2 líneas de color rosa-rojo púrpura, una en la zona de prueba "T" y otra en la zona de control "C". La intensidad de color de la línea "T" dependerá de la muestra en estudio. Cualquier color rosado visible, aunque sea muy tenue debe ser interpretado como positivo. El resultado es positivo aunque las intensidades del color de las líneas "T" y "C" sean diferentes.

Resultado Negativo (1 línea): se observa solamente una línea de color rojo-rosa púrpura en la zona de control "C". No aparece línea de color en la zona de prueba "T".

Resultado Inválido: la ausencia de la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de control "C" invalida el resultado, aunque esté o no presente la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de prueba "T". Un resultado inválido generalmente indica un error en la realización del procedimiento o un problema con la muestra. Con determinadas muestras pueden aparecer dificultades como migración incompleta, muestra muy viscosa o presencia de fibrina. En cualquier caso, revisar el procedimiento, centrifugar nuevamente la muestra y repetir el ensayo utilizando un nuevo cassette.

Algoritmo de interpretación		
Muestra original		
Resultado Positivo por WL Check HIV 1+2		Resultado Negativo por WL Check HIV 1+2
Repetir por duplicado		
Uno o ambos duplicados Positivos por WL Check HIV 1+2	Ambos duplicados Negativos por WL Check HIV 1+2	NEGATIVO
POSITIVO	NEGATIVO	
Realizar otra prueba (ej.: ELISA) y confirmar por Western Blot		

Nota: tener en cuenta las normativas específicas de cada país para el diagnóstico de infección por HIV

LIMITACIONES DEL METODO

- **WL Check HIV 1+2** es una prueba complementaria en el diagnóstico del HIV. Cualquier resultado obtenido con esta prueba debe ser cotejado con los datos clínicos del paciente antes de realizar el diagnóstico definitivo.
 - Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por HIV. Se puede obtener un resultado falso negativo en las siguientes circunstancias:
 - . Niveles bajos de anticuerpos anti-HIV en estadios tempranos de la infección.
 - . Infección con una variante del virus que no se detecta con esta prueba.
- Por estas razones se debe tener cuidado al interpretar un resultado negativo, especialmente en pacientes con presencia de síntomas clínicos y factores de riesgo. En este caso se recomienda analizar una nueva muestra obtenida con posterioridad.
- Muestras positivas por **WL Check HIV 1+2** indican la presencia de anticuerpos anti-HIV-1 y anti-HIV-2. Estas muestras deben ser repetidas utilizando otro método (como

ELISA) y confirmadas por Western Blot. El diagnóstico puede ser establecido solamente luego de interpretar los resultados junto con los datos clínicos del paciente.

- Para un resultado positivo, la intensidad de color de la línea "T" no necesariamente se correlaciona con la concentración de anticuerpos anti-HIV específicos en la muestra.
- Pueden obtenerse resultados falsos positivos en las siguientes situaciones: enfermedades autoinmunes, tuberculosis, lupus eritematoso sistémico, embarazo, vacunación contra hepatitis B y otras inmunizaciones, hemodiálisis, enfermedad hepática y otras enfermedades.
- **WL Check HIV 1+2** ha sido diseñado para la detección de anticuerpos contra HIV-1 y HIV-2 en suero, plasma y sangre entera humana. No utilizar otros fluidos biológicos como saliva, líquido cefalorraquídeo u orina.
- Pueden obtenerse resultados erróneos con muestras de suero o plasma con aspecto turbio debido a contaminación bacteriana o por haber sido sometidas a varios ciclos de congelación y descongelación.

- La utilización de muestras inactivadas por calor puede proporcionar resultados incorrectos.
- No utilizar pools de muestras o muestras diluidas.
- Ver sustancias interferentes en MUESTRA.

PERFORMANCE

a) Sensibilidad

Sensibilidad Clínica en Paneles de Performance

En un estudio realizado sobre diferentes paneles comerciales internacionales, se obtuvieron los siguientes resultados:

- PRB 108 (Anti-HIV 1 Low Titer Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 13 de las 14 muestras reactivas.
- PRB 109 (Anti-HIV 1 Low Titer Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 15 de las 19 muestras reactivas.
- PRB 204 (Anti-HIV 1 Mixed Titer Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 23 de las 23 muestras reactivas.
- WWRB303 (Worldwide HIV Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 13 de las 14 muestras reactivas para HIV-1 grupo M (subtipos A, B, C, D, F y G), HIV-1 grupo O y HIV-2.
- WWRB350 (Worldwide HIV Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 18 de las 18 muestras reactivas para HIV-1 grupo M (subtipos A, CRF02_AG, B, C, D, CRF01_AE, F, G y H).
- PRB 601 (HIV-1 Incidence/Prevalence Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 15 de las 15 muestras reactivas para HIV-1 correspondientes a infecciones recientes y de larga duración.
- PRZ 204 (Anti-HIV-1/2 Combo Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 14 de las 14 muestras reactivas para HIV-1 y HIV-2.
- PRZ 205 (Anti-HIV-1/2 Combo Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 14 de las 14 muestras reactivas para HIV-1 y HIV-2.
- PRZ 207 (Anti-HIV-1/2 Combo Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 14 de las 14 muestras reactivas para HIV-1 y HIV-2.
- PP 0508 (Panel de Performance para HIV, Q Panel, Brasil): se detectaron 16 de las 16 muestras reactivas.
- PP 0409 (Panel de Performance para HIV, Q Panel, Brasil): se detectaron 16 de las 16 muestras reactivas.

Sensibilidad Clínica en Paneles de Seroconversión

En un estudio realizado sobre diferentes paneles comerciales internacionales de seroconversión (Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics), se obtuvieron los siguientes resultados:

Nombre del panel	Días desde el primer sangrado	Tiempo (días) en el cual la muestra es reactiva	
		WL Check HIV 1+2	Western Blot (datos Sera Care)
PRB 904-D	0, 21, 49, 92, 99	92	92
PRB 912-L	0, 9, 14, 16, 28, 30	0	9
PRB 916-P	0, 4, 9, 15, 30, 35	30	30

PRB 919-S	0, 9, 11	9	9
PRB 924-X	0, 2, 8, 10, 26, 33, 35, 40	33	35 (Indet)
PRB 925-Y	0, 10, 18, 22, 44, 49	44	44 (Indet)
PRB 929-AD	0, 4, 14, 18, 21, 25, 28	25	25 (Indet)
PRB 930-AE	0, 3, 7, 10	7	10 (Indet)
PRB 944-AT	0, 2, 7, 9, 14, 16	14	14 (Indet)
PRB 947-AW	0, 9, 11, 20	9	9 (Indet)
PRB 949-AY	0, 6, 9, 18, 20	20	20 (Indet)
PRB 951-BA	0, 2, 8, 11, 15, 19	19	Negativo hasta 19 días
PRB 952-BB	0, 7, 10, 14, 17, 21	17	14 (Indet)
PRB 953-BC	0, 3, 7, 10	10	Negativo hasta 10 días
PRB 966	0, 2, 20, 22, 30, 35, 37, 44, 48, 51	48	Negativo hasta 51 días

Indet: indeterminadas

Sensibilidad Clínica en Paneles de muestras reactivas

En un estudio de 68 muestras reactivas, incluidas 4 muestras HIV-1 grupo O, provenientes de una institución hospitalaria, se detectaron las 68 muestras.

En otro estudio se suplementaron 30 sangres enteras con 30 sueros positivos para HIV y se evaluaron en paralelo las sangres enteras suplementadas y los respectivos sueros. Se detectaron la totalidad de las muestras (sangres enteras y sueros).

En otro estudio se evaluaron, en paralelo, 15 muestras reactivas de suero y plasma obtenidas del mismo paciente y para 10 de estas muestras también se evaluó sangre entera obtenida por punción capilar. Con todos los tipos de muestras se tuvieron resultados positivos.

b) Especificidad

En un estudio realizado sobre 1122 muestras de sueros, plasmas y sangres enteras provenientes de tres centros de salud diferentes, se encontró una especificidad de 99,91% con un $IC_{95\%} = 99,49\% - 99,98\%$.

En otro estudio realizado sobre 417 muestras de banco de sangre, la especificidad obtenida fue de 99,76% con un $IC_{95\%} = 98,65\% - 99,96\%$. Para 100 muestras de las 417 se evaluaron, en forma paralela, muestras de suero y plasma del mismo paciente y para 40 de estas 100 muestras también se evaluó sangre entera obtenida por punción capilar. Con todos los tipos de muestras se tuvieron resultados negativos. En otro estudio de 393 muestras de sueros y plasmas de tres centros de salud diferentes, se encontró una especificidad de 99,24% con un $IC_{95\%} = 97,78\% - 99,74\%$.

También se estudió la posible aparición de reactividades cruzadas ensayando muestras provenientes de 440 individuos con diferentes condiciones clínicas que pueden ser causantes de reacciones inespecíficas para el ensayo **WL Check HIV 1+2**. Estas condiciones incluyen mujeres embarazadas, pacientes hemodializados, pacientes con enfermedades autoinmunes o enfermedades infecciosas diferentes a HIV

(Chagas, HTLV, Hepatitis C, Hepatitis B, Sífilis, otras). Para esta población la especificidad fue de 98,18% con un IC_{95%} = 96,45% - 99,08%.

c) Precisión

Se evaluó la precisión del test siguiendo el protocolo EP5-A recomendado por el CLSI (ex NCCLS). Los ensayos fueron

realizados con 4 muestras positivas con diferentes niveles de reactividad y con 1 muestra negativa. Se realizaron 2 ensayos diarios evaluando cada muestra por duplicado por el transcurso de 20 días. Los resultados fueron leídos a los 20 minutos en un lector inmunocromatográfico y en forma visual. Las muestras positivas siempre dieron un resultado reactivo y la muestra negativa siempre dio un resultado no reactivo.

	Línea T					Línea C				
	Media (DO)	Intraensayo		Total		Media (DO)	Intraensayo		Total	
		S	CV	S	CV		S	CV	S	CV
Muestra positiva 1	0,221	0,027	12,36%	0,032	14,36%	0,676	0,066	9,69%	0,078	11,61%
Muestra positiva 2	0,085	0,018	20,88%	0,021	24,23%	0,686	0,077	11,22%	0,087	12,61%
Muestra positiva 3	0,271	0,044	16,40%	0,049	18,02%	0,702	0,070	9,94%	0,076	10,80%
Muestra positiva 4 (en dilución)	0,049	0,017	35,79%	0,017	35,36%	0,679	0,075	11,11%	0,085	12,59%
Muestra negativa	(-)	NC	NC	NC	NC	0,591	0,073	12,34%	0,104	17,61%

N = 80; (-) = no reactivo por lectura visual; NC = no corresponde

PRESENTACION

25 determinaciones (Cód. 1690319)

BIBLIOGRAFIA

- Centro Nacional de referencia para el SIDA (<http://www.cnrsida.org.ar>)
- Centers for Disease Control and Prevention: Rapid HIV Testing (<http://www.cdc.gov/hiv/topics/testing/rapid/index.htm>)
- Greenwald JL, Burstein GR, Pincus J, Branson B. - A rapid review of rapid HIV antibody tests. - Curr. Infect. Dis. Rep. 8/2:125 (2006).
- Centers for Disease Control and Prevention: Advancing HIV Prevention: New Strategies for a Changing Epidemic, United States, 2003. MMWR 2003, 52:329-332. (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5215a1.htm>)

- Centers for Disease Control and Prevention: Notice to Readers: Protocols for Confirmation of Reactive Rapid HIV Tests. MMWR 2004, 53:221-222 (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5310a7.htm>)
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. EP5-A, Vol. 19, N° 2, NCCLS.
- User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. EP12-A, Vol. 22, N° 14, NCCLS.
- Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard, 5ª Edición. H4-A5, Vol. 24, N° 21, CLSI (ex NCCLS).
- Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents. Approved Guideline. EP-25A, Vol. 29, N° 20, CLSI (ex NCCLS).

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Elaborado por:



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Nocivo



Uso diagnóstico "in vitro"



Corrosivo / Caústico



Contenido suficiente para <n> ensayos



Irritante



Fecha de caducidad



Consultar instrucciones de uso



Límite de temperatura (conservar a)



Calibrador



No congelar



Control



Riesgo biológico



Control Positivo



Volumen después de la reconstitución



Control Negativo




Contenido



Número de lote



Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N° 6661/11



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina