



HIV 1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) Manuale d'istruzioni

REF IHIV-C42	Italiano
--------------	----------

Test rapido per la determinazione qualitativa di anticorpi diretti contro il virus dell'HIV (Virus dell'immunodeficienza acquisita umana), sierotipi 1, 2 e sottotipo O su campioni di sangue intero, siero o plasma umano
Per uso professionale esclusivo "in vitro"

【IMPIEGO】

HIV1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) è un test rapido, immunocromatografico (su card), per la ricerca (qualitativa) di anticorpi specifici anti-HIV sierotipi 1, 2 e sottotipo O su campioni di sangue intero, siero o plasma umano, quale ausilio nella diagnosi di infezione da virus HIV (virus dell'immunodeficienza acquisita umana)

【SOMMARIO】

L'HIV rappresenta l'agente eziologico della Sindrome da Immunodeficienza Acquisita (AIDS-SIDA). Biologicamente, il virus è ricoperto da un involucro lipidico, derivato dalla membrana della cellula ospite. Alcune glicoproteine virali sono presenti in questo involucro. La particella virale contiene 2 copie di RNA_s genomico a polarità positive. L'infezione da HIV-1 può colpire ogni distretto corporeo con drammatici effetti sia a livello fisico che a livello del Sistema Nervoso Centrale (SNC). HIV-1 è stato isolato in pazienti affetti da AIDS, da sindromi ad esso correlate ed in soggetti apparentemente sani ma ad alto rischio potenziale di sviluppare AIDS.

HIV-1 presenta due sottotipi, M ed O. Ceppi altamente disomogenei di HIV-1 vennero identificati nel 1990 ed inizialmente assegnati al sottotipo O poiché tale variante possiede un pattern glicoproteico paragonabile a quello espresso da HIV-1, anche se si tratta di marcatori proteici simili.

Sebbene raramente messa in relazione con HIV-1 e HIV-2, l'infezione provocata dal sottotipo O è stata riscontrata sia in Africa (Camerun) che in Francia e Germania. HIV-2 è stato isolato da soggetti dell'Africa dell'Ovest, da pazienti affetti da AIDS e da individui sieropositivi asintomatici. HIV-1, HIV-2 ed il sottotipo O evocano sempre una risposta immune. La ricerca di anticorpi anti-HIV in campioni di sangue intero, siero o plasma umani è la procedura più efficiente e diffusa per determinare se un soggetto è stato esposto all'HIV e per sottoporre a screening anti-HIV sangue ed emoderivati nei Centri emotrasfusionali. Pur esistendo differenze nelle loro caratteristiche biologiche, nella reattività sierologica e nelle sequenze genomiche, HIV-1, HIV-2 ed il sottotipo O mostrano una forte cross-reattività antigenica.

HIV 1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) è un test rapido in grado di determinare qualitativamente la presenza di anticorpi diretti contro HIV (tipo 1, tipo 2 e sottotipo O) in campioni di sangue intero, siero o plasma umani.

【PRINCIPIO DEL METODO】

HIV 1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) è un immunotest qualitativo, su membrana immunocromatografica, per la ricerca di anticorpi diretti contro l'HIV in campioni di sangue intero, siero o sangue umani. La membrana viene rivestita, in corrispondenza delle linee T1 e T2 della card con antigeni ricombinanti da HIV: nello specifico, la linea T1 contiene antigeni da HIV-1 e Sottotipo O, mentre la linea T2 contiene antigeni da HIV-2. Durante lo sviluppo del test il campione di siero o plasma reagisce con gli antigeni ricombinanti da HIV, coniugati ad oro colloidale. La miscela formatasi migra attraverso la membrana immunocromatografica per capillarità, reagendo con antigeni ricombinanti da HIV e, se presenti anticorpi anti-HIV nel campione, generando una o due linee T colorate in corrispondenza della regione T: qualora il campione contenga anticorpi anti HIV-1 e/o Sottotipo O e, contemporaneamente, anche anti HIV-2, si formeranno 2 linee T colorate, indicando entrambe un risultato positivo, mentre l'assenza di linee colorate in corrispondenza della regione T indicherà sempre un risultato NEGATIVO. Quale controllo procedurale deve sempre svilupparsi una linea colorata in corrispondenza della regione C (Controllo), ad indicare il corretto volume di campione inoculato nel pozzetto S della card e la corretta migrazione del campione stesso.

【REAGENTI】

La card contiene antigeni ricombinanti da ceppi di HIV-1, HIV-2 e Sottotipo O coniugati a microparticelle e antigeni da ceppi di HIV-1, HIV-2 e Sottotipo O presenti nella regione T (linee T1 e T2) della membrana immunocromatografica.

【PRECAUZIONI】

- Per uso professionale esclusivo "in vitro". Non utilizzare mai oltre la data di scadenza.
- Non assumere cibi, bevande o fumare durante l'esecuzione del test
- Non utilizzare la card qualora il sacchetto sigillato risulti danneggiato
- Manipolare tutti i campioni come se si trattasse di materiale infetto. Osservare tutte le precauzioni stabilite per evitare contaminazioni. Seguire tutte le procedure di legge per la manipolazione e la successiva eliminazione del materiale utilizzato.
- Indossare i previsti D.P.I., quali camici da Laboratorio, guanti monouso e occhiali o visiera facciale, durante ogni fase della procedura analitica.
- L'umidità e la variabilità della temperatura ambiente possono avere effetti negativi sui risultati: pertanto, dopo l'apertura del sacchetto, la card deve essere utilizzata entro 1 ora, soprattutto se l'umidità relativa risulti >60% e la temperatura sia >30°C.

【CONSERVAZIONE E STABILITÀ】

The kit può essere conservato a temperatura ambiente o refrigerato (2-30°C). Le card sigillate sono stabili fino alla data di scadenza stampigliata sul sacchetto, soltanto se questo viene mantenuto sigillato. Le card devono rimanere nel proprio sacchetto sigillato fino al momento dell'uso. **NON CONGELARE.**

【RACCOLTA DEL CAMPIONE E PREPARAZIONE】

- Si possono utilizzare, indifferentemente, campioni di sangue intero (da puntura del polpastrello o prelievo venoso), siero o plasma.

A. Come eseguire correttamente il prelievo da puntura del polpastrello

- Far lavare le mani al paziente con sapone ed acqua tiepida o pulire con tamponi imbevuti di etanolo; lasciar asciugare
- Massaggiare la mano senza toccare la zona di puntura, strofinandola verso il polpastrello del dito medio o anulare
- Pungere la pelle del polpastrello con una lancetta sterile ed eliminare la prima goccia di sangue che affiora
- Delicatamente premere sotto il polpastrello, fino a formare una goccia di sangue sulla zona punta
- Prelevare il sangue del polpastrello utilizzando un tubo capillare (i.e. capillare eparinato da microematocrito), fino a raccogliere circa 50ul (in alternativa è possibile usare una micropipetta da 50ul con puntale sterile); evitare la formazione di bolle d'aria
- Dispensare il campione nel pozzetto S della card reattiva
- Il campione di sangue intero (solo in caso di prelievo venoso) è stabile fino a 48h, se conservato a 2-8°C (non è possibile congelarlo)

- Separare il siero o il plasma dal sangue intero al più presto possibile per evitare l'emolisi. Possono essere utilizzati esclusivamente campioni non emolizzati e limpidi
- La procedura analitica dovrebbe essere iniziata quanto prima dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a T.A. per periodi prolungati. I campioni possono essere conservati a 2-8°C fino a 3 giorni. Per periodi prolungati di conservazione, i campioni devono essere congelati a -20°C.
- Qualora si utilizzi il plasma possono essere impiegati, quali anticoagulanti: K3-EDTA, K2-EDTA, potassio citrato, litio eparina sodio ossalato, sodio eparina o sodio citrato
- Prima della seduta analitica, portare i campioni a T.A.. Campioni conservati a -20°C devono essere completamente scongelati e mescolati accuratamente prima dell'analisi. Evitare ripetuti congelamenti-scongelamenti dei campioni.
- Qualora i campioni debbano essere spediti, dovranno essere confezionati secondo la Normativa Vigente esistente in merito al trasporto di materiale pericoloso.

【MATERIALE NECESSARIO】

A corredo nel kit

Card	Contagocce
Buffer (0,02Na ₃ 0,025%Kanamicina solfato)	Manuale d'istruzione

Richiesto ma non in dotazione

Provette	Centrifuga	Timer	Lancette sterili
Capillari eparinati			

【PROCEDURA OPERATIVA】

Portare tutto il materiale reagentario ed i campioni a T.A. (15-30°C) prima della seduta analitica.

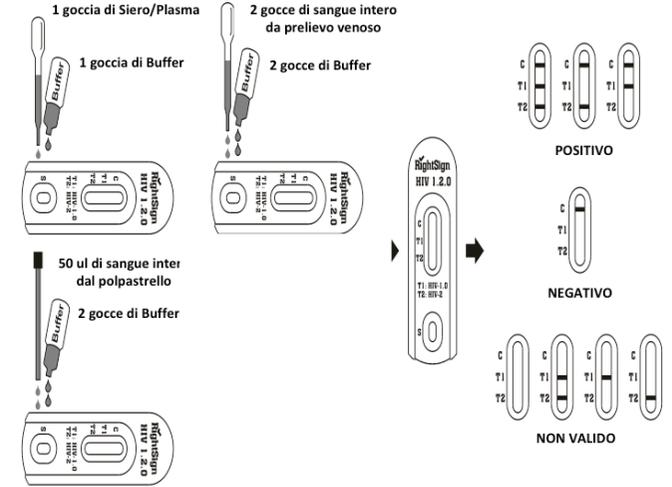
- Rimuovere ciascuna card dall'involucro sigillato ed utilizzarla al più presto. I migliori risultati si ottengono utilizzando la card entro 1 ora
- Posizionare la card su una superficie pulita ed in piano.

Per campioni di siero o plasma: mantenendo il contagocce in posizione verticale dispensare 1 **goccia di siero o plasma (approssimativamente 25 µL)** nel pozzetto S presente sulla card, quindi aggiungere 1 **goccia di buffer (approssimativamente 40 µL)** e far partire il timer. Evitare la formazione di bolle che potrebbero rimaner intrappolate nel pozzetto S. Vedi illustrazione sotto riportata.

Per campioni di sangue intero da prelievo venoso: mantenendo il contagocce in posizione verticale dispensare 2 **gocce di sangue intero (approssimativamente 50 µL)** nel pozzetto S presente sulla card, quindi aggiungere 2 **gocce di buffer (approssimativamente 80 µL)** e far partire il timer. Evitare la formazione di bolle che potrebbero rimaner intrappolate nel pozzetto S. Vedi illustrazione sotto riportata.

Per campioni di sangue intero da puntura del polpastrello: Utilizzo di un tubo capillare: riempire il capillare e dispensare 2 **gocce di sangue intero (approssimativamente 50 µL)** nel pozzetto S presente sulla card, quindi aggiungere 2 **gocce di buffer (approssimativamente 80 µL)** e far partire il timer. Evitare la formazione di bolle che potrebbero rimaner intrappolate nel pozzetto S. Vedi illustrazione sotto riportata

- Attendere lo sviluppo delle linee colorate. I risultati dovrebbero essere registrati dopo **10 minuti dall'inoculo**. Non interpretare i risultati oltre i **20 minuti**.



【INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI】

POSITIVO: *Si sviluppano 2 o 3 distinte linee colorate: una in corrispondenza della regione C (Controllo) ed una o due in corrispondenza della regione T (Test), ovvero T1 e/o T2.

*NOTA: l'intensità della colorazione delle linee (T1 e T2) varia in relazione alla concentrazione degli anticorpi anti-HIV presente nel campione. Pertanto, qualsiasi gradazione di rosato sviluppatasi nella regione T deve essere considerata positiva.

NEGATIVO: Si sviluppa una sola linea colorata in corrispondenza della regione C. Non si sviluppa alcuna linea colorata in corrispondenza della regione T.

NON VALIDO: Non si sviluppa la linea colorata C. Le più probabili cause di tale artefatto possono essere ricercate in un insufficiente volume di campione inoculato o in un'erronea procedura di analisi. Ricontrrollare la procedura e ripetere il test utilizzando una nuova card. Qualora il problema persista, non utilizzare più il kit e contattare il fornitore.

【CONTROLLO DI QUALITÀ】

Nella card è inserito un controllo procedurale interno. Lo sviluppo della linea colorata in corrispondenza della regione C rappresenta tale controllo interno a conferma della corretta esecuzione del test
Campioni biologici di controllo non sono inseriti nel kit; comunque, la B.P.L. prevede l'utilizzo di idoneo materiale di controllo

【LIMITAZIONI DEL METODO】

- HIV1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) è per uso esclusivo "in vitro" e può essere utilizzato per la ricerca di anticorpi anti-HIV esclusivamente in campioni di siero o plasma umani.
- HIV1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) può indicare esclusivamente la presenza di anticorpi anti-HIV nel campione e non può essere impiegato quale unico criterio diagnostico per la diagnosi di AIDS.
- Quali test di conferma, devono essere utilizzate ulteriori determinazioni analitiche stabilite dalle locali Autorità Sanitarie quali, ad esempio, test ELISA e Western Blot.
- Come per qualunque altro test diagnostico rapido, i risultati devono essere valutati in relazione a tutte le ulteriori evidenze cliniche.
- HIV1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) è utilizzabile per protocolli di screening: i risultati non devono essere impiegati per determinare il sierotipo o un'infezione da HIV.
- Dal momento che risulta possibile una cross-reattività virale, lo sviluppo contemporaneo di linee colorate sia in T1 che in T2 non indica, necessariamente, la confezione da HIV-1, HIV-2 e sottotipo O.
- Qualora il test risulti negativo, ma i sintomi clinici persistano, si raccomanda di eseguire tutti gli ulteriori e più approfonditi test diagnostici disponibili. Un risultato negativo non preclude la possibilità d'infezione causata da HIV.

【CORRELAZIONE】

HIV1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) è stato confrontato con un test HIV-Ab ELISA di riferimento regolarmente in commercio. La correlazione tra questi due sistemi analitici è risultata del 99,6%.

【CARATTERISTICHE DEL METODO】

Sensibilità e Specificità

HIV1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) ha correttamente identificato campioni provenienti da pannelli di sieroconversione ed è stato comparato con un HIV-Ab ELISA test di riferimento in commercio, utilizzando campioni clinici.

I risultati hanno evidenziato una sensibilità relativa del metodo >99.9%, e una specificità relativa del 99.9%.

Metodo		HIV 1.2.O Rapid Test Cassette		Correlazione	
Risultati		Positivi	Negativi		
ELISA	Positivi	HIV-1	360	0	>99.9% (360/360)
		HIV-2	100	0	>99.9% (100/100)
		HIV-1 Serotipi A-K(non subtipo B)	40	0	>99.9% (40/40)
		Totale	583	0	>99.9% (500/500)
	Negativi	Emoteca	2	1498	99.9% (1498/1500)
		Clinici Negativi	0	200	99.1% (200/200)
		Negativi Campioni da donne in gravidanza	0	200	>99.9% (200/200)
		Campioni con potenziali interferenti	6	104	94.5% (104/110)
		Totale	2	1998	99.9% (1998/2000)
	Risultati Totali		502	1998	99.9%(2498/2500)

Sensibilità relativa=500/500= >99.9% (95%CI*: 99.4%~100%);

Specificità relativa=1998/(1998+2)=99.9%(95%CI*: 99.6%~100%);

Accuratezza= (500+1998)/(500+2+1998)=99.9%(95%CI*: 99.7%~99.99%);

*intervalli di confidenza

Siero vs. Plasma

Sensibilità in campioni sieropositivi in parallelo di siero e plasma

Un totale di 60 campioni sieropositivi valutati in parallelo di siero e plasma sono stati analizzati con HIV 1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) Risultata un'ottima correlazione tra i dosaggi su siero e plasma utilizzando campioni sieropositivi per HIV

Tipo di campione	Numero di campioni analizzati	Correlazione tra i risultati positivi per HIV 1.2.O Rapid Test
Siero in parallelo	60	>99.9%(60/60)
Plasma in parallelo	60	>99.9%(60/60)

Specificità in campioni sieronegativi in parallelo di siero e plasma

Un totale di 130 campioni sieronegativi valutati in parallelo di siero e plasma ottenuti da volontari sani sono stati analizzati con HIV 1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma).

Risulta un'ottima correlazione tra i dosaggi su siero e plasma utilizzando campioni sieronegativi per HIV

Tipo di campione	Numero di campioni analizzati	Correlazione tra i risultati negativi per HIV 1.2.O Rapid Test
Siero in parallelo	130	>99.9%(130/130)
Plasma in parallelo	130	>99.9%(130/130)

【CARATTERISTICHE ANALITICHE】

Precisione

Intrasaggio

La precisione intrasaggio è stata determinata impiegando 10 replicati di quattro campioni: un negativo, un positivo a basso titolo, un positivo a medio titolo e un positivo ad alto titolo. Il negativo, il positivo a basso titolo, il positivo a medio titolo ed il positivo ad alto titolo sono stati correttamente identificati in misura >99% delle volte.

Intersaggio

La precisione intersaggio è stata determinata eseguendo 10 indipendenti sedute sui medesimi quattro campioni: un negativo, un positivo a basso titolo, un positivo a medio titolo e un positivo ad alto titolo. Tre diversi lotti di HIV 1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) sono stati testati utilizzando un negativo, un positivo a basso titolo, un positivo a medio titolo e un positivo ad alto titolo. I campioni sono stati correttamente identificati in misura >99% delle volte.

Cross-reattività

Non sono state osservate cross-reattività per HIV 1.2.O Rapid Test Cassette (Sangue intero/Siero/Plasma) quando sono stati testati campioni reattivi per HBs, HCV, HBe, HTLV-III, HEV, SYP, CMV, EBV, malaria, HSV, Fattori Reumatoidi (RF): i risultati hanno mostrato assenza di interferenza da cross-reattività.

Interferenze analitiche

Le seguenti sostanze potenzialmente interferenti sono state aggiunte (alle concentrazioni indicate) a campioni HCV-Ab negativi e positivi.

Acetaminofene:	20 mg/dL	Caffeina:	20 mg/dL
Acido Acetilsalicilico:	20 mg/dL	Acido Gentisico:	20 mg/dL
Acido ascorbico:	2g/dL	Albumina:	2 g/dL
Creatina:	200 mg/dL	Emoglobina:	1,1 g/dL
Bilirubina:	1g/dL	Acido Ossalico:	600mg/dL

Nessuna delle sostanze elencate alla concentrazione testata ha prodotto interferenze

【BIBLIOGRAFIA】

1. Bednar MM, et al. Compartmentalization, viral evolution, and viral latency of HIV in the CNS. Curr HIV/AIDS Rep. 2015;12:262–271.
2. 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
3. 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
4. Caetano JA Immunologic aspects of HIV infection. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S-58S
5. Sholukh AM, et al. Defense-in-depth by mucosally administered anti-HIV dimeric IgA2 and systemic IgG1 mAbs: complete protection of rhesus monkeys from mucosal SHIV challenge. Vaccine. 2015;33:2086–2095.
6. Bolton DL, et al. Human immunodeficiency virus type 1 monoclonal antibodies suppress acute simian-human immunodeficiency virus viremia and limit seeding of cell-associated viral reservoirs. J Virol. 2016;90:1321–1332

Indice dei Simboli

	Attenzione, seguire le istruzioni per l'uso		Tests per kit		Rappresentante Autorizzato
	Per uso esclusivo "in vitro"		Utilizzare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero di Lotto		N. Catalogo #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata				

Biotest
 Manufacturer Hangzhou Biotest Biotech Co., Ltd.
 17#, Futai Road, Zhongtai Street,
 Yuhang District, Hangzhou, P. R. China

1434

EC REP
 Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)
 Eiffelstrasse 80,
 20537 Hamburg, Germany

Numero: RP5004713
 Data effettiva: 2018-11-08

DISTRIBUITO DA:



clinical reagent specialists