

Kazetový test pro stanovení protilátek proti viru lidské imunodeficiencie

ÚVODNÍ INFORMACE

HIV/AIDS je jedna z nejzákeřnějších chorob lidstva, které jsme kdy čelili. HIV je virus lidské imunodeficiencie, který způsobuje chorobu AIDS. HIV destruuje některé buněčné složky krve, které jsou nezbytné pro normální funkci imunitního systému, chrání tělo proti chorobám. AIDS je syndrom získané imunodeficiencie. Objevuje se tehdy, kdy imunitní systém je oslaben HIV do té míry, že se u jednotlivce objeví množství onemocnění včetně nádorů.

HIV infekce se běžně detekuje prostřednictvím testování vzorků krve nebo ústního sekretu. V případě, že krev nebo ústní sekret obsahují anti-HIV protilátky - proteiny, které produkuje tělo v boji proti infekci – jedinec je HIV pozitivní. V poslední době byly vyvinuty rychlé HIV testy pro vyšetření ústního sekretu a mohou být také použity pro vzorky plazmy.

HIV nepřežívá dlouhou dobu mimo lidský organizmus. Proto se nemůže přenést náhodným každodenním kontaktem. Komáří a jiný hmyz HIV nepřenáší.

HIV se šíří pohlavním stykem s infikovanou osobou, sdílením jehel, stříkaček nebo jiných injekčních pomůcek nebo, méně běžně (a nyní velmi vzácně v zemích, kde se krev podrobuje screeningu na HIV protilátky), prostřednictvím transfuze infikované krve nebo faktorů srážení krve.

Včasná laboratorní diagnóza viru primární lidské imunodeficiencie (HIV) je založena na detekci virové RNA nebo p24 antigenu v plazmě/séru/plné krvi před tím, než dojde k protilátkové sérokonverzi. Diagnostické „okno“ HIV infekce se tak zúžilo na 4-5 dnů screenigem p24 antigenu.

POUŽITÍ

Anti-HIV 1/2 test je rychlá kvalitativní imunoanalýza pro detekci protilátek (IgG, IgA a IgM) vytvořených proti všem subtypům viru lidské imunodeficiencie typu 1 (HIV-1) a typu 2 (HIV-2) v lidské plné krvi / plazmě / séru.

DIAGNOSTIKA

Rekombinantní HIV antigen, monoklonální protilátka anti-HIV a rekombinantní HIV antigen konjugovaný s částicemi koloidálního zlata.

METODA

Anti-HIV 1/2 test používá imunochromatografickou techniku pevné fáze pro kvalitativní detekci HIV protilátek v lidské plné krvi / plazmě / séru. Test je imunoanalytická zkouška s vysokou citlivostí, ve které se používá kombinace monoklonálních protilátek a rekombinantních antigenů k selektivní detekci anti-HIV protilátek ve vzorku. Rekombinantní HIV antigeny (včetně gp120, gp41, gp36, p24) jsou imobilizovány v testovací oblasti "T" a monoklonální protilátky anti-HIV jsou imobilizovány v kontrolní oblasti "C" nitrocelulózové membrány. Rekombinantní HIV antigeny včetně gp120, gp41, gp36, p24 konjugované s částicemi koloidálního zlata jsou usušené v oblasti pro konjugát. Vzorky se aplikují do jamky pro vzorek. Jsou-li ve vzorku anti-HIV protilátky, anti-HIV se váže k mobilním rekombinantním HIV antigenům konjugovaným s částicemi koloidálního zlata. Společně se pohybují směrem k "T" oblasti. Molekuly anti-HIV se vážou k imobilizovaným rekombinantním HIV antigenům a výsledkem toho je, že molekuly anti-HIV, které už jsou navázány k mobilním rekombinantním HIV antigenům (konjugovaným s částicemi koloidálního zlata), jsou imobilizovány v "T" oblasti a tak vytvoří viditelný barevný proužek, který vzniká nahromaděním částic koloidálního zlata v "T" oblasti (barevný testovací proužek), znamenající pozitivní výsledek testu. Nejsou-li ve vzorku žádné anti-HIV protilátky, vzorek se pohybuje k "T" oblasti společně s nenavázanými (volnými) rekombinantními HIV antigeny konjugovanými s částicemi koloidálního zlata. Imobilizované rekombinantní HIV antigeny se nemohou navázat k mobilním HIV antigenům konjugovaným s částicemi koloidálního zlata, proto se neobjeví žádný viditelný barevný proužek v testovací "T" oblasti (žádný barevný testovací proužek), což znamená negativní výsledek testu. Bez ohledu na obsah anti-HIV v tekutině vzorku, jakmile tekutina vzorku prochází kontrolní "C" oblastí, mobilní rekombinantní HIV antigeny konjugované s částicemi koloidálního zlata se vážou k imobilizovaným monoklonálním protilátkám anti-HIV. Nahromaděním částic koloidálního zlata vytvoří viditelnou barevnou linii v "C" oblasti (barevný kontrolní proužek), což potvrzuje platnost výsledku testu. Barevný proužek v kontrolní oblasti "C" musí být vždy viditelný; není-li vidět žádný barevný proužek v kontrolní oblasti "C", je výsledek testu neplatný.

UPOZORNĚNÍ A OMEZENÍ

1. Pouze pro profesionální použití in vitro.
2. Nepoužívejte set po uplynutí expirační doby. Testovací kazeta je pouze na jedno použití. Nepoužívejte opakovaně.
3. Testovací kazeta musí zůstat v originálním obale do doby testování. Nepoužívejte test v případě poškození sáčku.
4. Pro provedení testu použijte ochranné rukavice.

5. Pro každý vzorek použijte nové kapátko.
6. Po testování se testovací kazeta odstraní do biologického odpadu.
7. Se všemi vzorky pacientů se zachází jako s potenciálně infekčními. Během celého postupu dodržujte všechna upozornění týkající se mikrobiologického rizika a odstranění do odpadu po provedeném testování proved'te v souladu s postupy daného pracoviště.
8. Nezamrazujte a nerozmrazujte opakovaně vzorky plazmy. Je-li to možné, vyhněte se použití zamrazených a rozmrazených vzorků, protože zbytky buněk mohou blokovat membránu.
9. Nepoužívejte zakalené, hemolytické vzorky. Zakalené vzorky můžete centrifugovat.
10. Hemolytické vzorky by se neměly používat, protože mohou způsobit neplatné nebo falešné výsledky.
11. Tento test ukazuje pouze přítomnost nebo chybění anti-HIV protilátek ve vzorku a nemůže být použit jako jediný důkaz pro diagnózu HIV.

Jako u všech diagnostických testů, musíte mít na zřeteli, že stanovení diagnózy nemůže být založeno na jednom výsledku testu. Diagnóza může být vyslovena pouze odborníkem až po vyhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů.

UCHOVÁVÁNÍ

Testovací kazety se musí uchovávat mimo zdroje radiace, přímého slunečního světla, vlhkosti a tepla.

Skladují se při 4 – 30°C. Nemrazí se.

Při zachování výše uvedených podmínek zůstává test v původním balení stabilní do konce expirační doby.

Testovací kazeta se musí použít do 1 hodiny po otevření.

Složení setu: Testovací kazety, kapátko, diluent (pouze pro vzorky plné krve) a návod k použití.

Materiál požadovaný, ale nedodávaný: Zkumavka na odběr vzorku, centrifuga a stopky

Materiál doporučený, ale nedodávaný: Mikropipety pro přenesení daného množství vzorku během provedení testu, negativní a pozitivní kontrolní materiály.

ODBĚR VZORKŮ A PŘÍPRAVA

Test se provádí s plnou krví / sérem / plazmou. Aby se zabránilo hemolýze, připravuje se sérum nebo plazma z krve co možná nejdříve.

Vzorky plné krve: S plnou krví se test musí provést ihned. V případě, že je testování odloženo, skladují se vzorky plné krve s antikoagulanciem (měl by se použít EDTA, heparin, citrát), aby se zabránilo koagulaci, při 2 – 8°C až do doby testování, maximálně 2 dny.

Vzorky séra: krev se odeberte do zkumavky bez antikoagulačního roztoku, ponechá se 30 minut stát, aby došlo ke koagulaci a poté se centrifuguje. Tekutina, která zůstává po ukončení centrifugace, se používá jako sérum. (Doba centrifugace & rychlost: 2300 – 2880 x g po dobu 10 minut).

Vzorky plazmy: Vzorek krve pacienta se odebírá do roztoku s antikoagulanciem (měl by se použít EDTA, heparin, citrát), aby se zabránilo srážení vzorku, a poté se centrifuguje. Tekutina, která zůstává po ukončení centrifugace, se používá jako plazma.

Nepoužívejte zakalené vzorky, se známkou hemolýzy. V případě, že vzorky nemohou být otestovány v den odběru, uchovávejte vzorky sér a plazmy v ledničce nebo zamrazené. Nemrazte opakovaně vzorky sér a plazmy. Vzorky plné krve se nemrazí. Před testováním vytemperujte vzorky na pokojovou teplotu. Zamražené vzorky musí být před testováním kompletně rozmrazeny a velmi dobře promíchány. Vzorky se známkami turbidity by se měly centrifugovat. Nepoužívejte, pokud je to možné, opakovaně zamražené a rozmražené vzorky, způsobují blokaci membrány buněčným detritem.

POSTUP TESTU

1. Vyndejte ze sáčku testovací kazetu. Vytemperujte vzorky plné krve / séra / plazmy a testovací kazetu na teplotu místnosti.

2. **Pro vzorky plné krve:** Naberte do kapátka plnou krev a kápněte jednu kapku (30 μ l) do jamky pro vzorek. Ihned poté přidejte do jamky pro vzorek jednu kapku diluentu a ponechejte vsáknout.

Pro vzorky séra / plazmy: Naberte do kapátka sérum / plazmu a nakapejte 2 kapky (50 μ l) do jamky pro vzorek.

Pro vzorky sér / plazmy nepoužívejte diluent.

Zabraňte vytvoření jakýchkoliv bublin.

3. V závislosti na koncentraci HIV ve vzorku může test reagovat do 5 minut. Výsledky by se měly odečítat do 15 minut. Neodečítejte výsledky po 20 minutě, výsledky získané po 20 minutě by měly být považovány za neplatné.

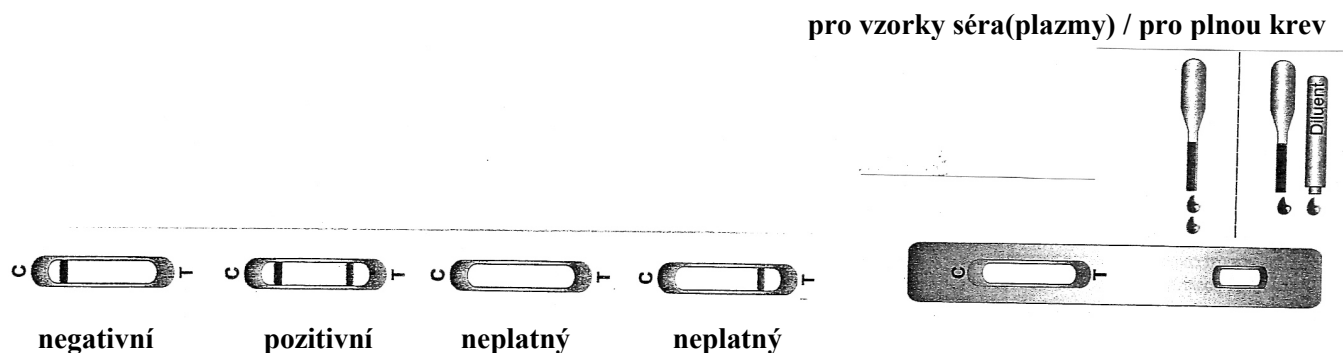
INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Negativní: Pouze jeden barevný proužek v oblasti "C", znamená nepřítomnost anti-HIV protilátek.

Pozitivní: V oblasti "T" a "C" jsou viditelné barevné proužky, znamená to přítomnost anti-HIV protilátek.

Nízká koncentrace anti-HIV protilátek může způsobovat slabý proužek v testovací oblasti "T". I takový jemný proužek v testovací oblasti musí být považován za pozitivní.

Neplatný: Není viditelný žádný barevný proužek nebo je viditelný pouze barevný proužek v testovací oblasti "T", test se musí opakovat s novou testovací kazetou.



KONTROLA KVALITY

Testy jsou postaveny na procesních vlastnostech kontroly kvality. Po provedení testu uživatel pozoruje barevný proužek v oblasti "C" u negativních vzorků a barevnou linii v "T" a "C" oblasti u pozitivních vzorků. Objevení kontrolního proužku v "C" oblasti je považováno za interní kontrolu kvality. Tento proužek znamená, že do jamky bylo přidáno dostatečné množství vzorku a současně platný výsledek testu. Doporučuje se používat negativní a pozitivní kontrolu pro ověření správného provedení testu jako externí kontrolu. Uživatelé by měli dodržovat státní a místní směrnice týkající se externí kontroly kvality.

VYHODNOCENÍ PROVEDENÍ

Test anti-HIV 1/2 detekuje protilátky (IgG, IgA a IgM) vytvořené proti všem subtypům viru lidské imunodeficiency – viru typu 1 (HIV-1) a typu 2 (HIV-2).

Stav vzorků	Stav vzorků anti-HIV	Vzorky sér S/P			Vzorky sér plná krev		
		Počet vzorků	Typ zkoušky	Výsledek	Počet vzorků	Typ zkoušky	Výsledek
Pozitivní vzorky (všechny dostupné subtypy)	pozitivní	500	EIA	100 %	500	EIA	100 %
Dárci krve	negativní	1058	EIA	100 %	1011	EIA	100 %
Klinické	negativní	250	EIA	100 %	210	EIA	100 %
Těhotné ženy	negativní	212	EIA	100 %	212	EIA	100 %
Revmatoidní faktor (RF)	negativní	150	EIA	100 %	150	EIA	100 %
anti-HCV	negativní	20	EIA	100 %	10	EIA	100 %
Bilirubin	negativní	10	EIA	100 %	-	-	-
Hemoglobin	negativní	10	EIA	100 %	-	-	-
Triglyceridy	negativní	10	EIA	100 %	-	-	-

Citlivost a specifita

Pro vzorky S/P; výsledky použitých pozitivních vzorků (500/500), negativních vzorků dárců krve (1058/1058) a klinických vzorků (250/250). Zpracování těchto výsledků; citlivost, specifita, + predikce, - prediktivní hodnoty byly vypočteny jako;

Citlivost: 100 % Specifita: 100 % +Predikce V: 100 % - Predikce V: 100 %

Pro vzorky plné krve; výsledky použitých pozitivních vzorků (500/500), negativních vzorků dárců krve (1011/1011) a klinických vzorků (210/210). Zpracování těchto výsledků; citlivost, specifita, + predikce, - prediktivní hodnoty byly vypočteny jako;

Citlivost: 100 % Specifita: 100 % +Predikce V: 100 % - Predikce V: 100 %

Sérokonverzní panely: Pro Türklab anti-HIV 1/2 rychlé testy bylo připraveno 30 sérokonverzních panelů, u nichž jako referenční zkouška byla použita EIA. Všechny 30 sérokonverzí bylo správně detekováno rychlými testy Türklab anti-HIV 1/2, které reagovaly pozitivní linií v kontrolní oblasti „C“ a další pozitivní linií v testovací oblasti „T“. EIA zkouška také detekovala sérokonverzi u všech 30 vzorků. Toto hodnocení ukazuje, že Türklab anti-HIV 1/2 rychlé testy jsou ve své citlivosti srovnatelné s EIA zkouškou se značkou CE.

Zkřížená reaktivita: Zkřížená reaktivita byla testována s níže uvedenými vzorky, žádná zkřížená reaktivita u anti-HIV 1/2 rychlých testů nebyla pozorována.

- anti-HCV vzorky plné krve / séra / plazmy,
- vzorky plné krve / séra / plazmy těhotných žen.

Interference: Následující potenciálně interferující látky byly testovány s anti-HIV 1/2 rychlými testy: hemoglobin, bilirubin, triglyceridy, revmatoidní faktor (RF). Nebyla pozorována žádná interference.

Hemolytické vzorky nemohou být použity, protože způsobují neplatné nebo falešně pozitivní výsledky.

Literatura:

1. UNAIDS: Global Fact Sheets, 2016
2. Global AIDS Update; 2016
3. NIAMA F.B., TOURE-KANE C., VIDAL N., OBENGUI P., BIKANDOU B., et al.: ⁺HIV-1 subtypes and recombinants in the Republic of Congo, Infection, Genetics and Evolution 6 (2006)337-343
4. UNAIDS; Global Summary of the HIV Epidemic in 2004.
5. World Health Organization: Progress on Global Access to HIV Antiretroviral Therapy: An Update on 3x5, June 2005.
6. US National Institute of Allergy and Infectious disease, <http://www.niaid.nih.gov/topics/HIVAIDS/Understanding/Treatment/pages/arvdrugclasses.aspx>
7. RIBAS G.S., ONDOA P., SCHÜPBACH J., GROEN G., FRANSENK., Performance of a quantitative human immunodeficiency virus type 1 p24 antigen assay on various HIV-1 subtypes for the follow-up of human immunodeficiency type 1 seropositive individuals, Journal of Virological Methods, 113(2003)29-34
8. WHO, Media Centre, Blood Safety and Availability, Fact sheets, Updated 2016
9. UNAIDS Fact Sheet, AIDS and Girls Education, 2 February 2004 Therapy: An Update on 2x3, June 2005.
10. World Health Organisation (WHO):<http://www.who.int/docstore/hiv/PMTCT/002.htm>
11. UNAIDS, Resource Needs for an Expanded Response to AIDS in Low and Middle Income Countries, June 2005.
12. Defaulters in a cohort of HIV infected patients, Oluwasey, Samson Akindunjoye, September 2007
13. Girls' education: towards a better future for all, published by the Department for International Development, January 2005

Datum poslední revize: 22.3.2019

Revize č.08

 TÜRKLAB TIBBI MALZEMELER SAN. ve TIC.A.S.









ITOB 10031 Sokak No: 15 Tekeli Menderes Izmir /TURKEY
Tel.: +90 232 376 80 81
Fax: +90 232 376 80 40 www.turklab.com.tr
info@turklab.com.tr

Distribuce

EXBIO Olomouc s.r.o.
Ovesná 14
779 00 Olomouc, Česká republika
Tel.: +420 587 301 011, www.exbio.com

 1434

SYMBOLY

	Značka CE		Skladujte při (omezení teploty)
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>		Sledujte návod k použití
	Katalogové číslo		Číslo šarže
	Spotřebujte do (expirace)		Výrobce