

## Jednostopniowy szybki test do różnicującego wykrywania przeciwciał przeciwko wirusowi HIV-1/HIV-2.

Określenie „szybki test” należy rozumieć w odniesieniu do testów, które mogą być użyte tylko pojedynczo lub w małych seriach w celu uzyskania szybkiego wyniku dla pacjenta.

### WPROWADZENIE

HIV (ludzki wirus upośledzenia odporności) został uznany za etiologiczny czynnik zespołu nabytego niedoboru odporności (AIDS). Wirus przenoszony jest drogą płciową, przez kontakt z zakażoną krwią, niektórymi płynami ustrojowymi i tkankami oraz zakażenie przez matkę płodu lub dziecka w okresie okołoporodowym. HIV-1 został wyizolowany od pacjentów z AIDS oraz osób zdrowych z grupy podwyższonego ryzyka zachorowania na AIDS. Wirusa HIV-2 wykryto głównie u pacjentów z Afryki Zachodniej. Przebieg zakażenia cechuje nasiloną replikację wirusa prowadzącą do powstania coraz bardziej patogennych odmian. Proces ten powoduje niszczenie systemu odpornościowego. Stadium infekcji HIV jest określane liczbą komórek CD4 i klinicznymi objawami. Nie wszyscy ludzie przechodzą przez wszystkie „fazy” i także ich ramy czasowe mogą bardzo się między nimi różnić.

Wirusy HIV-1 i HIV-2 wykazują podobieństwo pod względem budowy, powinowactwa komórkowego oraz działania na organizm żywiciela. Badania serologiczne wykazały, że HIV-1 i HIV-2 mają wiele podobieństw w antygenach rdzenia, lecz dużo mniej w ich otocze. Te kliniczne diagnostyczne zagadnienia powiązane z HIV są istotne przy wykrywaniu testem immunologicznym przeciwciał anty HIV1/2 w ludzkim osoczu czy surowicy. Wśród istniejących metod immunologicznych do wykrywania przeciwciał HIV1/2, dostępne są m.in. testy ELISA i test (szybki) immunochromatograficzny.

W procedurach ELISA powszechnie zastosowano syntetyczne peptydy i rekombinowany antygen określający antygenowe determinanty białek HIV. Zastosowanie ostatnio rekombinowanego antygeny zarówno jako materiału wykrywającego jak i wiążącego znacznie zwiększyło czułość i specyficzność w porównaniu do szybkich testów bazujących tylko na syntetycznych peptydach. Naukowcy firmy Standard Diagnostics, Inc. skonstruowali geny HIV1/2 służące do ekspresji rekombinowanych antygenów w genomie bakteryjnym *E. coli* i uzyskali białka wirusa HIV1/2 o wyraźnej immunogenności. Główne immunoreaktywne antygeny tych białek to gp41 i p24 dla HIV-1, a gp35 dla HIV-2 potwierdzono badaniami typu Western Blot. Wiadomym jest, że 10% ludzi ma przeciwciała anty-*E. coli*. Naukowcy SD, Inc. testowali więc reaktywność krzyżową z króliczymi anty-*E. coli* w celu zbadania reaktywności krzyżowej ludzkiego anty-*E. coli*. W wyniku badań stwierdzono brak reakcji krzyżowych pomiędzy rekombinowanymi antygenami HIV1/2 uzyskanymi z *E. coli* i ludzkimi przeciwciałami anty-*E. coli*.

### ZASADA METODY

Zestaw SD BIOLINE HIV1/2 3.0 jest szybkim, jakościowym testem do jednoczesnego i różnicującego wykrywania przeciwciał wszystkich klas (IgG, IgM, IgA) przeciwko wirusom HIV-1 łącznie z podtypem 0 i HIV-2 w ludzkiej surowicy, osoczu lub krwi pełnej.

Test SD BIOLINE HIV1/2 3.0 zawiera pasek z membraną chromatograficzną z opłaszczonym na linii testowej 1 rekombinowanymi antygenami wychwytyjącymi przeciwciała anty-HIV-1 (gp41, p24) i odpowiednio na linii testowej 2 rekombinowanym antygenem wychwytyjącym przeciwciała anty-HIV-2 (gp36). Znakowany koniugat rekombinowanych antygenów HIV1/2 (gp41, p24 i gp36) i próbka migrują wzdłuż membrany chromatograficznej w kierunku obszaru testowego okna wyniku (T) formując z wysoką czułością i specyficznością widoczną linię z utworzonego kompleksu antygen-przeciwciała-antygen-koloid gold. Linie testowe i linia kontrolna zostały w oknie wyników w sposób przejrzysty oznakowane: „1” dla linii testowej 1, „2” dla linii testowej 2 i „C” dla linii kontrolnej. Żadna z tych linii nie jest widoczna w oknie wyników przed zaaplikowaniem jakiegokolwiek próbki. Linia kontrolna została użyta do kontroli prawidłowości wykonania testu.

### ZASTOSOWANIE

Zestaw SD BIOLINE HIV1/2 3.0 jest szybkim, jakościowym testem do równoczesnego, różnicującego wykrywania przeciwciał wszystkich klas (IgG, IgM, IgA) przeciwko wirusom HIV-1 i HIV-2 w ludzkiej surowicy, osoczu lub krwi pełnej. Test przeznaczony jest do profesjonalnego użytku tylko jako wstępne badanie przesiewowe, a próbki reaktywne powinny być potwierdzone badaniem uzupełniającym takim jak ELISA czy testem Western Blot.

### SKŁAD ZESTAWU

1. Zestaw SD BIOLINE HIV1/2 3.0 zawiera następujące składniki niezbędne do wykonania badania;

- Kasetka testowa indywidualnie pakowana - 30 szt.
- Bufor rozcieńczający (do wykonania testu) - 1 but.
- 20 µl pipety kapilarne, - 30 szt.
- Instrukcja - 1 szt.

2. Reaktywne składniki głównych komponentów

- Główne składniki kasetki testowej: **mieszanka koniugatu**: rekombinowane antygeny HIV 1 gp41, p24, HIV-2 gp36 (1±0,2 µg), **linia testowa 1**: rekombinowany antygen HIV-1 gp41, p24 (0,625±0,125 µg), **linia testowa 2**: rekombinowany antygen HIV-2 gp36 (0,5±0,1 µg), **linia kontrolna**: kozia surowica anty HIV (0,75±0,15 µg)
- Bufor zawiera: 50 mM bufor Tris-HCl, azydek sodu (0,02/ w/w)

### MATERIAŁY WYMAGANE LECZ NIE DOSTARCZONE

- Pipeta 20 µl
- Waciki nasączone alkoholem

### PRZECHOWYWANIE / STABILNOŚĆ / UWAGI

1. Test SD BIOLINE HIV1/2 3.0 powinien być przechowywany w temperaturze pokojowej (1-30°C). Nie przechowywać w lodówce.

2. Po pierwszym otwarciu butelki z buforem, zachowuje on trwałość do daty ważności, jeśli był przechowywany w temperaturze 1-30°C. Nie zamrażać zestawu i jego składników.
3. Kasetki są czułe na zawilgocenie i przegrzanie.
4. Test należy wykonać natychmiast po wyjęciu kasetki z foliowego opakowania.
5. Nie używać po upływie terminu ważności.
6. Okres przechowywania zestawu podano na opakowaniu zewnętrznym.
7. Nie używać zestawów, których opakowanie zostało uszkodzone lub rozpieczętowane.
8. Nie używać ponownie kasetek testowych.

### OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

#### [Ostrzeżenia związane z regulacjami prawnymi dotyczącymi HIV]

1. Test może nie wykryć świeżo nabytego zakażenia HIV i może dać wynik ujemny.

#### [Środki ostrożności]

1. Używać rękawic ochronnych. Umyć ręce bezpośrednio po zakończeniu pracy.
2. Nie pipetować próbki ustami.
3. Nie jeść i nie palić w trakcie postugiwania się materiałem biologicznym.
4. W przypadku rozlania wytrzeć i zastosować środek dezynfekcyjny.
5. Odkazać i umieścić w zbiorniku na odpady materiał badany, zużyte kasetki i materiały, które mogły ulec zanieczyszczeniu.
6. Bufor zestawu SD BIOLINE HIV1/2 3.0 zawiera środek antybakteryjny, który przy zachowaniu w laboratorium normalnych środków ostrożności nie stwarza ryzyka dla użytkownika.

#### [Środki ostrożności dotyczące obchodzenia się z próbkami]

1. Unikać rozlewania i wytwarzania pyłu wodnego.
2. Nie mieszać i nie przestawiać próbek.
3. Próbkę można przechowywać przez 7 dni w temperaturze 2-8°C.
4. Antykoagulanty takie jak heparyna, EDTA i cytrynian sodu nie mają wpływu na wynik testu.
5. Użycie próbek z hemolizą, zawierających czynniki reumatoidalne, lipemicznych i ikteryicznych może prowadzić do osłabienia wyniku testu.

#### [Ostrzeżenia]

1. Tylko do diagnostyki *In vitro*. Kasetek NIE UŻYWAĆ POWTÓRNIC.
2. Aby otrzymać prawidłowe wyniki, należy dokładnie przestrzegać procedury wykonania testu. Każdy użytkownik wykonujący test musi być przeszkolony i musi być fachowym pracownikiem laboratorium.
3. Przy zakrapianiu buforu do okienka z próbką uważać by nie zanieczyścić końcówki butelki.

### POBRANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

1. Krew pełna

#### [Pobranie przez nakłucie żyły]

- Pobrać do próbki (na antykoagulant taki jak heparyna, EDTA, cytrynian sodu).
- Jeżeli testu nie wykonujemy natychmiast, próbki krwi należy przechować w lodówce w temp. 2-8°C.
- Przechowywane w ten sposób (w temp. 2-8°C) próbki krwi należy użyć do badania w ciągu 3 dni.
- Jeśli wymagane jest dłuższe niż 3 dniowe przechowywanie, zalecane jest zamrożenie próbek. Przed użyciem należy rozmrożone próbki doprowadzić do temp. pokojowej (1-30°C).
- Użycie do badania próbek krwi przechowywanych dłużej niż 3 dni może spowodować niespecyficzne reakcje.

#### [Pobranie przy użyciu skalpela]

- Zdezynfekować miejsce nacięcia wacikiem nasączonym alkoholem.
- Ścisnąć opuszkę i naciąć ją sterylnym skalpelem.
- Dostarczoną w zestawie 20 µl kapilarę zanurzyć otwartym końcem w kropli krwi i pobrać krew do poziomu czarnej kreski zaznaczonej na kapilarze.

2. Osocze lub surowica

- [Osocze] Pobrać do próbki (na antykoagulant taki jak heparyna, EDTA, cytrynian sodu) przez nakłucie żyły i następnie odwirować by uzyskać osocze.
- [Surowicę] Pobrać do próbki (nie zawierającej antykoagulantów) przez nakłucie żyły, pozostawić na 30 minut do utworzenia skrzepu i następnie odwirować by uzyskać supernatant.
- Jeśli surowica lub osocze nie są badane natychmiast, można przechować je do 7 dni w lodówce w temp. 2-8°C lub przy dłuższym przechowywaniu zamrozić.
- Przed użyciem należy je doprowadzić do temp. pokojowej (1-30°C).
- Próbkę surowicy lub osocza zawierającej strąty mogą fałszować wynik testu.

Taki materiał powinien być oczyszczony przed wykonaniem testu.  
**Uwaga:** Należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania próbki. Jeśli próbki będą poddawane cyklowi powtórnego zamrażania-rozmrażania odpowiednio po 7 i po 3 dniach przechowywania, wynikiem tego może być złe tło i/lub osłabienie spoistości linii.

### WYKONANIE TESTU (NAWIĄZANIE DO ILUSTRACJI)

1. Wyjąć kasetkę z foliowego opakowania, umieścić na płaskiej, suchej powierzchni.
2. [Używając pipety kapilarnej]  
Do okienka na próbkę (S) dodać 20 µl próbki krwi pobranej pipetką kapilarną.  
**LUB**  
[Używając pipety]  
Do okienka na próbkę (S) dodać 10 µl osocza lub surowicy (20 µl próbki krwi pełnej).
3. Następnie dodać dokładnie 4 krople buforu do okienka na próbkę (S).
4. W momencie kiedy test zaczyna działać, można zauważyć purpurową linię migrującą w oknie wyników znajdującym się pośrodku kasetki.
5. Wyniki należy odczytywać w ciągu 5-20 minut.  
\* Wynik ujemny należy ostatecznie interpretować w 20 minucie.

**Uwaga:**

- Dodanie 5 czy 6 kropli buforu może wywołać zjawisko odwrotnej migracji i/lub pojawienie się zabarwienia tła i jego małą wyrazistość z powodu ograniczenia możliwości chłonnych podłoża.
- Nie odczytywać wyniku po upływie 20 minut. Zbyt późny odczyt może być przyczyną błędnej interpretacji wyniku.

**INTERPRETACJA WYNIKÓW**

1. Kolorowa linia pojawiająca się z lewej strony okna wyników wskazuje na prawidłowe działanie testu. Jest to linia kontrolna (C) testu.
2. Kolorowe linie pojawiające się w środku i po prawej stronie okna wyników wskazują rezultat testu. Są to: linia testowa 2 i linia testowa 1 (2, 1).

**WYNIK UJEMNY**

Obecność tylko linii kontrolnej (C) w oknie wyników oznacza wynik ujemny.

**WYNIK DODATNI**

1. Obecność dwóch kolorowych linii w oknie wyników - linia kontrolna (C) i linia testowa 1 (1) wskazuje na dodatni wynik dla HIV-1.
  2. Obecność dwóch kolorowych linii w oknie wyników - linia kontrolna (C) i linia testowa 2 (2) wskazuje na dodatni wynik dla HIV-2.
  3. Obecność trzech kolorowych linii w oknie wyników - linia kontrolna (C), linia testowa 1 (1) i linia testowa 2 (2) wskazuje na dodatni wynik dla HIV-1 i HIV-2.
- Jeśli natężenie barwy linii testowej 1 jest mocniejsze niż linii testowej 2, wynik należy interpretować jako dodatni dla HIV-1.
- Jeśli natężenie barwy linii testowej 2 jest mocniejsze niż linii testowej 1, wynik należy interpretować jako dodatni dla HIV-2.

**Uwaga:** Chociaż dodatni wynik dla HIV-1 i HIV-2 u jednego pacjenta jest rzadkim przypadkiem, to sytuacja taka może występować, ponieważ pomiędzy HIV-1 i HIV-2 istnieje homologiczność w sekwencji aminokwasów. W celu określenia właściwego typu wirusa i prawidłowego zdiagnozowania wspólnego zakażenia należy wykonać badanie testem potwierdzenia tj. np. Western Blot.

**WYNIK NIEPRAWIDŁOWY**

Brak linii kontrolnej (C) w oknie wyników potwierdza nieprawidłowe funkcjonowanie testu. Brak linii może świadczyć o nieprawidłowym migracji materiału w membranie chromatograficznej lub o uszkodzeniu testu. W takim wypadku zaleca się powtórzenie badania próbki przy użyciu nowego testu.

**OGRANICZENIA**

1. Chociaż dodatni wynik może wskazywać na infekcję HIV-1 czy HIV-2, podstawą do zdiagnozowania AIDS może być tylko całościowy obraz kliniczny zgodnie z przyjętymi kryteriami. Próbkę, które określono przy powtórnym badaniu jako dodatnie, należy zbadać bardziej specyficznymi testami uzupełniającymi.
2. Negatywny wynik testu nie wyklucza możliwości infekcji HIV-1/HIV-2. Próbkę może zawierać niskie poziomy przeciwciał anty HIV-1/HIV-2.
3. Próbkę, które określono przy powtórnym badaniu jako dodatnie należy zbadać ponownie stosując inną metodę.
4. Sam tylko test immunochromatograficzny nie może być użyty do zdiagnozowania AIDS nawet, gdy w próbce pacjenta wykryto przeciwciała anty HIV-1 czy/i HIV-2.
5. Jak przy wszystkich testach diagnostycznych, ostateczna kliniczna diagnoza nie powinna się opierać na pojedynczym wyniku testu, lecz powinna być podjęta przez lekarza po ocenie wszystkich zebranych danych.

**WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI**

Test SD BIOLINE HIV1/2 3.0 zawiera linię testową 1 i 2 oraz linię kontrolną. Żadna z linii nie jest widoczna przed dodaniem materiału badanego. Linia kontrolna została użyta do wewnętrznej kontroli testu i musi się pojawiać w każdym teście, co świadczy o jego prawidłowym wykonaniu i właściwym działaniu odczynników linii kontrolnej.

**CHARAKTERYSTYKA TESTU**

1. Czułość diagnostyczna

Rodzaj HIV	Ilość próbek	SD HIV 1/2 3.0	
		Ujemne	Dodatnie
HIV-1 (*1,2)	480	0	480
HIV-2 (*1,2)	120	0	120
Wszystkie	600	0	600 (100%)

2. Swoistość diagnostyczna

Kategoria	Ilość próbek	SD HIV 1/2 3.0	
		Ujemne	Dodatnie
Zdrowi dawcy	500 (*3)	500	0
	250 (*4)	250	0
	250 (*5)	250	0
Możliwość interferencji (*2,6)	500	498	2
Wszystkie	1500	1498(99,87%)	2

3. Możliwe interferencje

Tabela poniżej pokazuje wyniki testu SD BIOLINE HIV1/2 3.0 testowanego na różnych próbkach zawierających możliwe substancje interferujące.

Rodzaj HIV	Ilość próbek	SD HIV 1/2 3.0	
		Ujemne	Dodatnie
Pacjenci hospitalizowani (*2)	200	198	2
Kobiety w ciąży (*6)	200	200	0
Próbki potencjalnie reagujące krzyżowo (*6)	100	100	0

- \* Uzyskano ujemne wyniki dla próbek zawierających Anty-HBV (50pr.), Anty-HCV (5pr.), Anty-CMV (20pr.), Anty-EBV (20pr.), RF (2pr.), Anty-HTLV-I/HTLV-II (3pr.).
4. Panele serokonweryjne (\*1)  
Czułość określono na 33 dostępnych komercyjnie panelach serokonwersji. Wyniki wykazały, że test SD BIOLINE HIV1/2 3.0 był tak samo czuły jak zarejestrowane testy HIV ze znakiem CE wykrywające przeciwciała anty-HIV. Czułość diagnostyczna dla krwi pełnej nie była sprawdzana z zastosowaniem paneli serokonwersji, lecz tylko testowane równorzędnie.

**\* Laboratoria w których wykonano ocenę testu:**

- 1: Testing Laboratory for In Vitro Diagnostic Devices at the Paul Ehrlich Institute
  - 2 : National Center for Epidemiology Microbiological Research Group
  - 3 : German Red Cross, Hessen
  - 4: National Blood Bank, Regional Center, Buda, Budapest
  - 5: National Health Center, Department of Transfusion and Diagnostics, Budapest
  - 6 : National Center for Epidemiology, Division of Virology, Budapest
5. Precyzja
- Odtwarzalność między seriami określono powtarzając 5-krotne badania 9 różnych próbek o różnej koncentracji przeciwciał na różnych seriach testu SD HIV.
  - Odtwarzalność w serii określono powtarzając 3-krotne badania 9 różnych próbek o różnej koncentracji przeciwciał na jednej serii testu SD HIV.

**BIBLIOGRAFIA**

1. McCutchan, F.E. (2006). Global epidemiology of HIV. J. Med. Virol. 78, Suppl. I, S7-S 12.
2. Branson, B.M. (2003). Point-of Care Rapid Tests for HIV Antibodies. J. Lab. Med. 27, 288-295.
3. Ferreira Junior, O.e., Ferreira, e., Riedel, M., Widolin, M.G.V., and Barbosa-Junior, A. (2005). Evaluation of Rapid tests for anti-HIV detection in Brazil. AIDS 19 (suppl4), S70-S75.
4. Constantine, N. (2006). HIV Antibody Assays. HIV InSite Knowledge Base Chapter.
5. Castilla, J., Pachon, I., Gonzalez, M.P., Amela, e., Munoz, I., Tello, O., Noguer, I., de Ory, F., Leon, P., Alonso, M., Gil, E., and GarciaSaiz, A. (2000). Seroprevalence of HIV and HTLVin a representative sample of the Spanish population. Epidemiol. Infect. 125, 159-162.
6. Manfredi, R., Calza, I., and Chiodo, F. (2001). HIV disease among immigrants coming to Italy from outside the European Union: a casecontrol study of epidemiological and clinical features. Epidemiol. Infect. 127, 527-533.
7. Lot, F., Semaille, e., Cazein, F., Barin, F., Pinget, R., Pillonel, J., and Desendos, J.e. (2004). Preliminary results from the new HIV surveillance system in France. Eurosurveillance 9,10-12.
8. Soriano, V., Gomes, P., Heneine, W., Holguin, A., Doruana, M., Antunes, R., Mansinho, K., Switzer, W.M., Araujo, e., Shanmugam, V., Lourenco, H., Bonzalez-Lahoz, J., Antunes, F. (2000). Human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) in Portugal: clinical spectrum, circulating subtypes, virus isolation, and plasma viral load. J. Med. Virol. 61, 111-116.

Należy zapoznać się z instrukcją użytkownika IVD Tylko do użytku w diagnostyce in vitro Tylko do jednokrotnego użytku Przechowywać w temperaturze

Przeczytaj instrukcję stosowania Zwrotność wystarcza na <= testów Przechowywać w temperaturze

LOT Nr serii REF Nr kat. Zażył do

CE 0123 STANDARD DIAGNOSTICS, INC. 156-68 Hagal-dong, Giheung-gu, Yongin-si, Kyonggi-do, Korea Tel : 82-31-899-9700 Fax : 82-31-899-9740 http://www.standarda.com

SD CE 0123 Lantest Manufacturer Jinan Lianta Medical Plastic Products Co., Ltd. No. 212 Beijing Road 250100 Jinan, Shandong PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA

Authorized Representative MT Promed Consulting GmbH Altenhofstrasse 80 D-66386 St. Ingbert Germany Phone : +49 6804 581020, Fax : +49 6804 581021

EC REP ECE-Representative Shanghai International Holding Corp. GmbH(Europe) Eiffelstraße 80 20537 Hamburg, Germany

Wersja polska 22.06.2010 (1)

**Importer i dystrybutor:**  
**ALPHA DIAGNOSTICS Sp. z o.o.**  
 01-347 Warszawa ul. Gabriela 2  
 Dział handlowy – tel. (022) 632 75 13; centrala – tel. (022) 631 40 13  
 Fax. (022) 632 42 11  
 Produkcja, Magazyn, Kontrola Jakości, Serwis:  
 00-739 Warszawa ul. Stepińska 22/30  
 Tel. (022) 631 42 27, fax. (022) 631 48 23  
 e-mail: [ad@alphadiag.com.pl](mailto:ad@alphadiag.com.pl)  
[www.alphadiag.com.pl](http://www.alphadiag.com.pl)