

determine_{detect...diagnose...determine...}

HIV 1/2

Před použitím produktu si důkladně přečtěte tento návod. Postupy uvedené v návodu musí být přesně dodržovány. Je-li test proveden jiným než doporučeným postupem nelze garantovat správnost získaných výsledků.

ÚČEL POUŽITÍ

Určeno pouze pro použití odborným zdravotnickým personálem.

Determine™ HIV-1/2 je snadno vizuálně interpretovatelná kvalitativní imunoassay určená pro *in vitro* diagnostiku protilátek proti HIV-1 a HIV-2 v lidském séru, plazmě či plné krvi. Test je určen k detekci protilátek proti HIV-1/HIV-2 u infikovaných jedinců.

Poznámka: Národní předpisy mohou omezit použití rychlých diagnostických testů z lidských vzorků.

SHRNUTÍ A POPIS TESTU

Syndrom získané imunodeficiency - AIDS (z anglického Acquired Immunodeficiency Syndrome) je charakterizován změnami v buněčné populaci T-lymfocytů. U infikovaného jedince způsobuje virus postupný pokles populace pomocných T-lymfocytů a takto imunosuprimovaný organismus je poté ohrožen mnohými oportunními infekcemi a některými malignitami. Virus, který vyvolává onemocnění AIDS existuje ve dvou známých typech jako HIV-1 a HIV-2. Přítomnost viru v organismu vyvolává produkci specifických protilátek proti HIV-1 nebo HIV- 2.^{1,2,3}

PRINCIP TESTU

Determine HIV-1/2 je immunochromatografický test ke kvalitativní detekci protilátek proti HIV-1 a HIV- 2.

Klinický vzorek z aplikační oblasti vzlíná částí membrány obsahující konjugát antigenu s koloidním selenem. Ten se uvolňuje a dále celá směs migruje pevnou fází až k proužku s imobilizovanými rekombinantními antigeny a syntetickými peptidy v detekční oblasti (označené Patient). Jestliže vzorek pacienta obsahuje protilátky proti HIV-1 a/nebo HIV-2 dojde k jejich vazbě s konjugátem antigenu s koloidním selenem a následně také s antigeny v okně detekční oblasti za vzniku červené linie.

Pokud vzorek protilátky proti HIV-1 a/nebo HIV-2 neobsahuje uvolněný konjugát vzlíná dále za oblast detekční linie a nedojde k zobrazení červené linie.

Test obsahuje kontrolní oblast s kontrolní linií, která je vnitřní kontrolou správnosti provedení a funkčnosti testu.

OBSAH BALENÍ

Determine HIV-1/2 20 testů (katalogové číslo 7D2346) či 100 testů (katalogové číslo 7D2347)

- Determine HIV-1/2 testovací karta, 2 karty nebo 10 karet (10 testů na kartě) s vázanými rekombinantními antigeny a syntetickými peptidy HIV-1/2.

Pro testování vzorků plné krve je třeba použít:

Promývací pufr (Chase buffer) (katalogové číslo 7D2247)

- Reagenční lahvička (o objemu 2.5 mL) s promývacím pufrem (katalogové číslo 7D2247) připraven z fosfátového pufru. Konzervační látka: Antimikrobiální látka.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- Pro test z plné kapilární krve - EDTA Capillary Tubes - kapiláry (katalogové číslo 7D2227)

BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Určeno pouze pro použití odborným zdravotnickým personálem.

VAROVÁNÍ:

Tento výrobek obsahuje infekční a/nebo potenciálně infekční částice. Složení jednotlivých produktů viz bod **OBSAH BALENÍ**. Žádná známá metoda či opatření nemůže zaručit naprostou neinfekčnost materiálů získaných z lidských vzorků či inaktivovaných mikroorganismů. Proto je nutné považovat výrobky za potenciálně infekční a dodržovat veškerá doporučená opatření a postupy pro manipulaci s infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

Determine HIV-1/2 testovací karty a promývací pufr je třeba uchovávat po dobu použitelnosti při teplotách 2 - 30°C. Součásti balení jsou při dodržení podmínek pro skladování a manipulaci stabilní po dobu použitelnosti. Neužívejte součásti soupravy po datu expirace.

Po vyjmutí potřebných testů ostatní nepoužité testy hned opět uzavřete do ochranného obalu s absorbentem vlhkosti. Nepoužívejte testy pokud jsou vlhké či je poškozený ochranný obal.

ODBĚR VZORKU

Sérum, plazma, a venózní plná krev

Odběr lidského séra, plazmy a venózní plné krve je třeba provést sterilním způsobem a je třeba zabránit vzniku hemolýzy.

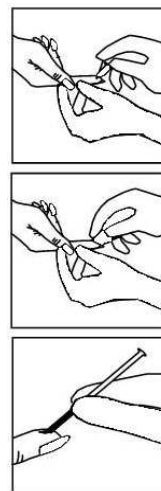
Kalné vzorky či vzorky obsahující viditelné částice je vhodné odstředit před vyšetřením, aby se předešlo možným chybným výsledkům testů.

POZNÁMKA: Pro vzorky získané odběrem venózní krve je nutné provést odběr do odběrové soupravy obsahující EDTA.

Odběr plné kapilární krve lancetou (Fingerstick)⁴

Před odběrem vzorku si na čistém a suchém místě připravte kapiláru s EDTA.

1. Vyberte si jeden z prstů ruky - prostředník, prsteník nebo ukazovák u dospělých a dětí starších jednoho roku. Pro zvýšení krevního průtoku v prstech zahřejte ruku dle potřeby teplým a navlhčeným ručníkem či teplou vodou.
2. Očistěte špičku prstu alkoholovým dezinfekčním prostředkem a ponechte volně vysušit. Ruku otočte dlaní vzhůru.
3. Uchopte novou sterilní lancetu a umístěte do středu bříška prstu. Pevně stiskněte lancetu proti prstu a propíchněte tím kůži. Poté použitou lancetu likvidujte jako infekční odpad.
4. Sterilní gázou setřete první kapku krve.
5. Přidržte ruku pod úroveň lokte paže a mírným opakovaným tlakem stlačte oblast distálního a mediálního článku prstu. Uchopte poté kapiláru a dotekem kapky krve proveďte odběr krve*. Zabraňte tvorbě vzduchových bublin.



* jestliže provádíte odběr do EDTA kapiláry, naplňte kapiláru krví do oblasti mezi dvěma liniemi.

UCHOVÁNÍ VZORKU

- Sérum a vzorky plazmy mohou být před provedením testu uchovány při teplotách 2 - 8°C po dobu sedmi dnů. Při nutnosti delšího uchování je třeba vzorky zamrazit nejméně při teplotách (-20°C).
- Plnou venózní krev je možné uchovat při teplotách 2 - 8°C po dobu sedmi dnů. Vzorky plné krve nikdy nemrazte.

- Plná krev odebraná do kapiláry je určena k okamžitému vyšetření.

PRACOVNÍ POSTUP

Vyjměte požadovaný počet testů uvolněním z karty opakovaným ohýbáním v perforaci.

POZNÁMKA:

- Testovací karty vyjímajte z obalu jejich pravou stranou, aby nedošlo k poškození čísla šarže uvedeného na levé straně karty.
- Test je třeba provést do dvou hodin po odstranění ochranného obalu každého testu.



1. Odstraňte ochranný obal každého testu.
2. Pro vzorky séra a plazmy:
 1. Aplikujte 50 μ L vzorku (přesnou pipetou) do aplikační oblasti (označené šipkou).
 2. Čekajte nejméně 15 minut a odečtěte výsledek (výsledek lze odečíst maximálně po 60 minutách).
3. Pro plnou venózní krev:
 1. Aplikujte 50 μ L vzorku (přesnou pipetou) do aplikační oblasti (označené šipkou).
 2. Počkejte jednu minutu, pak kápněte jednu kapku promývacího pufru do aplikační oblasti.
 3. Čekajte nejméně 15 minut a odečtěte výsledek (výsledek lze odečíst maximálně po 60 minutách).
4. Pro plnou kapilární krev (fingerstick):
 1. Aplikujte 50 μ L vzorku (kapilárou s EDTA) do aplikační oblasti (označené šipkou).
 2. Vyčkejte dokud se nenasaje všechna krev do polštářku v aplikační oblasti, poté kápněte do této oblasti jednu kapku promývacího roztoku.
 3. Čekajte nejméně 15 minut a odečtěte výsledek (výsledek lze odečíst maximálně po 60 minutách).

KONTROLA KVALITY

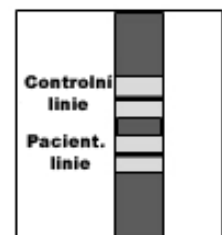
K zajištění správnosti měření je součástí testu procedurální kontrola označená Control. Pokud po provedení testu nedojde k zobrazení červené linie v kontrolní oblasti je nutno výsledek hodnotit jako chybný a je třeba test opakovat.

Národní regulační předpisy mohou stanovit pravidla zahrnující provedení pozitivní a negativní kontroly při každém provedení testu.

HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

POZITIVNÍ (dvě linie)

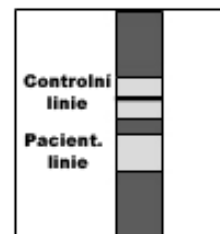
Objeví se dvě červené linie v kontrolní (označená Control) i v testovací oblasti (označená Patient) karty. Jakékoli rozeznatelné červené zabarvení v oblasti testovací linie (Patient) je třeba interpretovat jako pozitivní výsledek.



Pozitivní

NEGATIVNÍ (jedna linie)

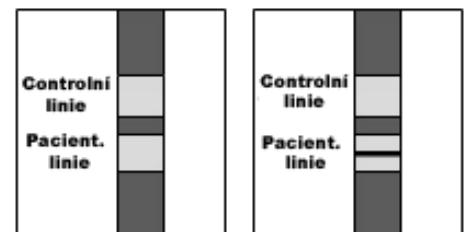
Po provedení testu se zobrazí jedna červená linie v kontrolní oblasti (označená Control) a testovací oblast zůstane nezměněna (označena Patient).



Negativní

CHYBNÝ (žádná linie)

Nedochází k červenému zabarvení kontrolní linie a výsledek testu je třeba hodnotit jako chybný nezávisle na přítomnosti či nepřítomnosti linie v testovací oblasti. V tomto případě je vhodné test zopakovat.



Chybný

Chybný

POZNÁMKA:

- Výsledek testu je třeba hodnotit jako pozitivní i když intenzita zabarvení je odlišná (nižší i vyšší) od intenzity zabarvení kontrolní linie.
- Pokud se chybné výsledky opakují, či se vyskytují nějaké technické potíže kontaktujte svého lokálního distributora nebo volejte linku technické podpory.

OMEZENÍ

- Determine HIV - 1/2 test je určen k detekci protilátek HIV - 1 a HIV - 2 v lidském séru, plazmě a plné krvi. Při použití jiných tělních tekutin či vzorků nelze ručit za přesnost získaných výsledků.
- Intenzita zabarvení linie v testovací oblasti (Patient) nemusí korelovat s titrem protilátek ve vzorku.
- Vzhledem k možným nespecifickým reakcím způsobeným jinými příčinami než infekcí HIV je vhodné u pozitivních výsledků a to zejména v populacích s nízkou prevalencí onemocnění HIV provést další confirmující vyšetření. Těmito testy mohou být například Western blot (WB), nepřímá imuno fluorescenční analýza (IFA), radioimunoprecipitace (RIPA) či amplifikační metody detekce nukleových kyselin.
- Vzhledem k nedostupnosti komerčních panelů vyšetřujících sérokonverzi z plné krve nelze tímto postupem confirmovat výsledky ze vzorků plné krve.
- Negativní výsledek získaný testem Determine HIV - 1/2 nevylučuje možnost infekce HIV.
- Falešně negativní výsledek testu se může vyskytnout v následujících případech:
 - při nízkých hladinách protilátek, jež jsou pod detekční schopností testu (například v období časně sérokonverze)
 - u infekce variantou viru, která je hůře detekovatelná Determine HIV-1/2 testem
 - jestliže nedochází k vazbě protilátek proti HIV se specifickými antigeny použitými v testu - ve výjimečných případech může být důsledkem falešně negativní výsledek testu
 - pokud došlo při manipulaci se vzorky ke ztrátě multivalence protilátek proti HIV

Při hodnocení negativních výsledků je tedy třeba vždy brát zřetel na výše uvedené skutečnosti. Výsledky testu je nutné pokaždé konfrontovat s dalšími klinickými údaji a vyšetřeními (jako jsou symptomy či rizikové faktory onemocnění).

- Pozitivitu vzorků je vhodné ověřit jinou diagnostickou metodou a teprve společně s celkovým důkladným klinickým vyšetřením lze stanovit diagnózu.
- Plná krev nebo vzorky plazmy obsahující jiná činidla zabraňující srážení krve než EDTA mohou ovlivňovat negativně výsledky.

CHARAKTERISTIKY TESTU

SPECIFICITA

Tabulka 1

Specificita Determine HIV-1/2

Skupina	Počet testovaných vzorků	Determine HIV-1/2	
		Negativní	
Séronegativní			
Sérum	1707*	1703/1707	(99.77%)
Plazma	521	521/521	(100.00%)
Těhotné ženy	208*	206/207	(99.52%)
Západní Afričané	49	48/49	(97.96%)
Pacienti s jinými onemocnění než HIV, potenciálně ovlivňující reakci	320*	313/316	(99.05%)
Celkem	2805**	2791/2800	(99.68%)

* Jeden vzorek těhotné ženy a čtyři vzorky od nemocných jinou chorobou než HIV byly pozitivní při testování Determine HIV-1/2. Pozitivita čtyř vzorků byla potvrzena metodou Western blot a jeden vzorek s nejasným výsledkem při provedení Western blot byl testován pozitivní komerčně dostupným testem založeným na metodě mikročásticové enzymové imunoanalýzy (MEIA).

** 961 vzorků bylo odebráno pacientům v Evropě, 706 vzorků v Severní Americe, 1089 vzorků v Asii a 49 vzorků pocházelo od pacientů z Afriky.

Celkem bylo testováno 2 805 vzorků séra a plazmy pocházející z Evropy, Asie, západní Afriky a Severní Ameriky testem Determine HIV - 1/2 (viz. Tabulka 1).

Tabulka 2

Srovnání specificity testu Determine HIV-1/2 dle geografické oblasti

Oblast	Počet testovaných vzorků	Determine HIV-1/2	
		Negativní	
Evropa Severní	801	796/799	(99.62%)
Amerika	706	697/702	(99.29%)
Asie	1089	1089/1089	(100.00%)
Afrika	2118	2079/2118	(98.16%)

Provedením Determine HIV - 1/2 testu a dalším komerčně dostupnými testy bylo testováno celkem 4714 séronegativních vzorků séra a plazmy původem z oblastí Evropy, Severní Ameriky, Asie a Afriky (viz Tabulka 2). Vzorky pocházející od pacientů ze Severní Ameriky, Asie, dále 801 z 961 vzorků původem z Evropy a 49 ze 2118 vzorků z Afriky (označené v Tabulce 1 jako "západní Afričané") byly zahrnuty již v první části testování (Tabulka 1). Negativita u nejasných vzorků byla potvrzována buď metodou Western blot nebo provedením HIV-1 PCR.

Tabulka 3

Porovnání specificity testu Determine HIV-1/2 při testování vzorků plné krve, párového séra a plazmy

Typ vzorku	Počet testovaných vzorků	Determine HIV-1/2	
		Negativní	
Sérum	416*	416/416	(100.00%)
Plazma	416*	416/416	(100.00%)
Plná krev (venózní odběr)	416*	416/416	(100.00%)
Plná krev (kapilární krev)	39	39/39	(100.00%)

* 48 vzorků bylo odebráno v Evropě a 368 bylo z Thajska.

Dále bylo Determine HIV- 1/2 testováno celkem 416 séronegativních vzorků plné krve spolu s párovým sérem a plazmou u pacientů původem z Evropy a Thajska. Z toho 39 vzorků plné krve od pacientů z Thajska bylo testováno ze vzorků získaných jak venepunkcí, tak odběrem kapilární krve (viz Tabulka 3).

SENZITIVITA

Tabulka 4

Senzitivita testu Determine HIV-1/2

Skupina		Počet testovaných vzorků	Determine HIV-1/2	
			Pozitivní	
HIV-1	pozitivní	599*	599/599	(100.00%)
HIV-2	pozitivní	147*	147/147	(100.00%)
HIV-1	Subtypy A-G	222	222/222	(100.00%)
HIV-1	Skupina O	12	12/12	(100.00%)
Celkem		980	980/980	(100.00%)

* 111 vzorků bylo původem od pacientů z Evropy, 228 vzorků bylo získáno od pacientů ze Severní Ameriky, 296 vzorků z Asie a 111 vzorků z Afriky.

Ve studii bylo testováno 980 vzorků séra a plazmy pozitivních na protilátky proti HIV - 1 a HIV - 2 pocházejících od pacientů z Evropy, Severní a Jižní Ameriky, Asie a Afriky provedením Determine HIV - 1/2 (viz tabulka 4).

Tabulka 5

Srovnání senzitivity testu Determine HIV-1/2 dle geografické oblasti

Oblast	Počet testovaných vzorků	Determine HIV-1/2	
		Pozitivní	
Evropa	111	111/111	(100.00%)
Severní Amerika	228	228/228	(100.00%)
Asie	296	296/296	(100.00%)
Afrika	1129	1128*/1129	(99.91%)

* Jeden negativní vzorek stanovený Determine HIV-1/2 testem byl potvrzen jako pozitivní HIV-1 PCR reakcí a komerčně dostupným testem založeným na metodě mikročásticové enzymové imunoanalýzy (MEIA).

Dále bylo testováno 1764 séropozitivních vzorků séra a plazmy pocházejících od pacientů z Evropy, Severní a Jižní Ameriky, Asie a Afriky provedením Determine HIV - 1/2 (viz tabulka 5). Vzorky od pacientů z Evropy, Severní Ameriky, Asie a 111 ze 1129 vzorků z Afriky (označené v Tabulce 4 jako "HIV 2 pozitivní") bylo

zahrnuto již v předchozí části (Tabulka 4). Pozitivita u nejasných vzorků byla potvrzována buď metodou Western blot nebo provedením HIV-1 PCR.

Tabulka 6

Porovnání senzitivity testu Determine HIV-1/2 při testování vzorků plné krve, párového séra a plazmy

Typ vzorku	Počet testovaných vzorků	Determine HIV-1/2 Pozitivní	
Sérum	127*	127/127	(100.00%)
Plazma	127*	127/127	(100.00%)
Plná krev (venózní odběr)	127*	127/127	(100.00%)
Plná krev (kapilární krev)	32	32/32	(100.00%)

* 25 vzorků bylo odebráno v Evropě a 102 bylo z Thajska.

Provedením Determine HIV- 1/2 bylo vyšetřeno celkem 127 séropozitivních vzorků plné krve spolu s párovým sérem a plazmou u pacientů původem z Evropy a Thajska. Z toho 32 vzorků plné krve odebraných v Thajsku bylo testováno ze vzorků získaných jak venepunkcí, tak odběrem kapilární krve (viz Tabulka 6).

Tabulka 7

Srovnání senzitivity testu Determine HIV-1/2 při vyšetření sérokonverze s komerčně dostupným testem

Destička	Den odběru	Komerčně dostupný test * (S/CO)	Determine HIV-1/2
Destička A			
A-4	18	0.55	-
A-5	21	1.45	-
A-6	25	12.84	+
A-7	28	16.85	+
Destička B			
B-4	9	0.38	-
B-5	15	0.38	-
B-6	28	6.59	+
B-7	33	12.18	+

Destička C			
C-3	13	0.39	-
C-4	27	1.47	-
C-5	34	8.76	+
C-6	50	5.32	+
Destička D			
D-1	0	0.38	-
D-2	3	0.39	-
D-3	9	5.76	+
Destička E			
E-1	0	0.38	-
E-2	7	0.54	-
E-3	11	4.59	+
E-4	15	6.09	+

* Referenční metodou byl komerčně dostupný test, založený na metodě mikročásticové enzymové imunoanalýzy (MEIA).

U pěti destiček (panelů) detekujících sérokonverzi bylo současně u všech odběrů provedeno testování pomocí Determine HIV-1/2 a komerčně dostupným testem založeným na metodě mikročásticové enzymové imunoanalýzy (viz tabulka 7).

LITERATURA:

1. Piot P, Plummer FA, Mhalu FS, Lamborary JL, Chin J, Mann JM. AIDS: An International Perspective. *Science*. 1988;239:573-579.
2. Weniger BG, Takebe Y, Ou CY, *et al.* The Molecular Epidemiology of HIV in Asia. *AIDS*. 1994;8(S2):S13-S28.
3. Gürtler LG, Hauser PH, Eberle J, *et al.* A New Subtype of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (MVP-5180) from Cameroon. *Journal of Virology*. 1994;68(3):1581-1585.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Procedures and devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard-Fifth Edition* H4-A5 Vol.24 No.21

Kontaktní informace

Pro jakékoli další informace, prosím kontaktujte vašeho lokálního distributora či volejte odborníka firmy Inverness Medical

Medial spol. s r. o.

Obchodní 110

251 70 Praha Čestlice

<http://www.medial.cz>

determine@medial.cz

Vyrobeno pro firmu ABBOTT JAPAN CO., LTD.

Červenec, 2007 ©2007 Inverness Medical Japan Co., Ltd. 467873/R