

HSV IMMUNOFLOW™

HERPES SIMPLEX VIRUS (HSV) TEST

REF 7015



25

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO



USO PREVISTO

ImmunoFLOW HSV è un test rapido qualitativo per la rilevazione degli anticorpi IgG contro l'Herpes Simplex Virus 1+2 ed Herpes Simplex Virus 2 su campioni di siero.

INTRODUZIONE

Esistono due tipi di Herpes antigenici. (1,2) "Una diagnosi definitiva di infezione da Herpes genitale è fondamentale per la gestione dei pazienti e per lo sviluppo di strategie al fine di prevenire la trasmissione ai partner e ai neonati".(3) Tale diagnosi si è dimostrata imprecisa quando basata esclusivamente sulla storia clinica e la valutazione medica.(4) Per determinare gli anticorpi anti-HSV sono stati sviluppati numerosi metodi sierologici, fra i quali la fissazione del complemento, l'immunofluorescenza indiretta, la neutralizzazione su placca e il test western blot (5,6,7). Tuttavia, la maggior parte di questi metodi sierologici che consentono di stabilire lo stato immunitario nei confronti del virus HSV, utilizza lisati virali come antigene. A causa della significativa reattività crociata esistente fra i virus HSV-1 e HSV-2 e della schiacciante prevalenza di infezioni da HSV-1, è praticamente impossibile differenziare in modo affidabile le infezioni HSV-1 da quelle HSV-2 con questi test. Recentemente sono stati sviluppati test sierologici HSV tipo-specifico basandosi sulla significativa differenza esistente fra la proteina gG-1 dell'HSV-1 e la proteina gG-2 dell'HSV-2. La proteina specifica più comunemente utilizzata è la glicoproteina G. **Il test HSV ImmunoFLOW utilizza la proteina ricombinante HSV gG 2.**

PRINCIPIO DEL METODO

Il test ImmunoFLOW è composto da una cassetta di supporto e tre reagenti. La cassetta è composta da matrice di cellulosa (per esempio nitrocellulosa) e da materiali assorbenti. La matrice di cellulosa è costituita da tre "punti" ognuno contenente un antigene (per esempio, controllo positivo, analita 1, analita 2). Il siero si deposita al centro della cassetta per poter scorrere attraverso la membrana di cellulosa. Per garantire la specificità del test viene applicato un reagente di lavaggio che viene assorbito dalla membrana. Infine particelle d'oro colloidale legate a un reagente immunologico (per esempio, antimmunoglobulina) vengono applicate e assorbite. Il test è basato su una reazione antigene/anticorpo. Il siero attraversando la membrana con l'aggiunta di oro colloidale, attiva la reazione e la conseguente colorazione rosso/rosa del controllo ed eventualmente dei punti test in caso di positività.

REAGENTI

- **Cassette:** HSV lisato (McIntyre strain), HSV gG-2 proteina ricombinante (origine E. coli) e reagente di controllo
- **Wash 1:** Soluzione tampone con sodio azide <0.1%
- **Diluente:** Soluzione salina tampone con sodio azide <0.1%
- **Color G:** Oro colloidale coniugato con Proteina A in soluzione salina tampone con sodio azide <0.1%

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Questo kit deve essere utilizzato solo da personale altamente qualificato, addestrato alle procedure di laboratorio e che abbia familiarità con i potenziali rischi in laboratorio. Utilizzare il kit facendo riferimento alle "buone pratiche di laboratorio". Non mangiare, bere o fumare durante l'utilizzo del kit. Indossare adeguati indumenti protettivi, tra cui, camice, occhiali e guanti in lattice monouso.

I sieri umani per la preparazione di questo prodotto sono stati testati e trovati non reattivi all'antigene di superficie dell'epatite B, agli anticorpi per HIV-1, HIV-2, HTLV-1, e al virus dell'epatite C. Poiché nessun test può assicurare la totale assenza di agenti infettivi, maneggiare reagenti e campioni dei pazienti come potenzialmente infettivi.

Alcuni reagenti contengono sodio azide (NaN₃) che può reagire col piombo e rame formatosi all'interno delle tubature creando azoturi di metallo altamente esplosivi. Per lo smaltimento, sciacquare con abbondante acqua per evitare la formazione di azoturo.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C. Portare i reagenti a temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'uso. Evitare contaminazione dei reagenti. Una volta aperta la confezione contenente la cassetta, deve essere utilizzata entro 12 ore. Gli altri componenti del kit devono essere utilizzati entro la data di scadenza.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

Il test ImmunoFLOW HSV viene eseguito su siero. Conservare i campioni a temperatura ambiente per non più di otto ore. Se il dosaggio non dovesse essere eseguito entro otto ore, congelare il campione a -20°C.

Non utilizzare campioni fortemente lipemici, eventualmente centrifugare per rendere il campione limpido. Sieri particolarmente chiari possono influenzare l'interpretazione del risultato.

PROCEDIMENTO

MATERIALE FORNITO

- Cassette
- Wash 1
- Diluente
- Color G

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Sistema di raccolta del campione
- Pipette
- Reagenti di controllo
- Timer
- Provette
- Fotocamera (optional)

PREPARAZIONE (SET-UP)

1. Rimuovere le cassette dal blister, una per test.
2. Estrarre dalla confezione il reagente di lavaggio (Wash 1) e il rivelatore di colore (Color G).
3. Preparare una diluizione 1:2 (50:50) del campione e del controllo utilizzando il diluente (Diluent) in dotazione. (Per empio, aggiungere 200 µL di campione in 200 µL di Diluente).

PROCEDURA DEL SAGGIO

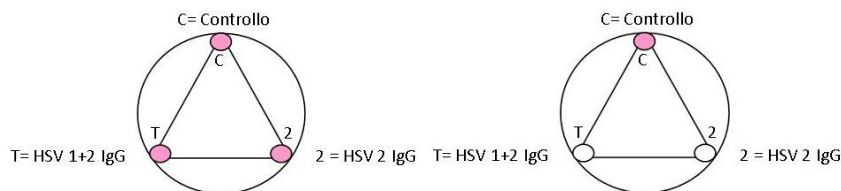
1. Aggiungere **100 µL** di Wash 1 alla cassetta. Lasciare scorrere tutto il liquido attraverso il dispositivo.
2. Aggiungere **200 µL** di campione o controllo **diluito 1:2**. Lasciare scorrere tutto il liquido attraverso il dispositivo. (Nota: se al campione occorre più di un minuto per scorrere attraverso la cassetta, non continuare il saggio. Ripetere la procedura. Se il campione continua a non scorrere attraverso la membrana, lo stesso non è accettabile per la procedura. Se ciò si verifica comunemente, riportare il problema alla GenBio. Di solito ciò è causato da sieri fortemente lipemici, ma può verificarsi senza alcuna causa apparente.)
3. Aggiungere **100 µL** di Wash 1 alla cassetta. Lasciare scorrere tutto il liquido attraverso il dispositivo.
4. Aggiungere **100 µL** di Color G alla cassetta. Lasciare scorrere tutto il liquido attraverso il dispositivo.
5. Aggiungere **100 µL** di Wash 1 alla cassetta. Lasciare scorrere tutto il liquido attraverso il dispositivo.
6. Leggere i risultati entro **due minuti**. (Per un record permanente, utilizzare una fotocamera digitale)

INTERPRETAZIONE

Reattivo: È visibile un punto rosso/rosa

Non Reattivo: Non è visibile nessun punto T e 2

Invalido: Non si colora C = Controllo



INTERPRETAZIONE CLINICA

Interpretazione	C	T	2
HSV-2 Reattivo IgG	+	+	+
HSV-2 Negativo, Probabile	+	+	-
HSV-1 Reattivo IgG	+	-	-
HSV Negativo	+	-	-

Se il colore del punto è equivoco, interpretare come negativo/non-reattivo.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il test viene effettuato a temperatura ambiente (18-45°C). I test devono essere effettuati in base alle linee guida o ai requisiti delle regolamentazioni locali, statali e/o federali o di organizzazioni accreditate. Se non diversamente richiesto, si consiglia di testare il siero di controllo al ricevimento di ogni kit. Ogni cassetta contiene un controllo positivo insito nella membrana. La colorazione del controllo C (Dot C) deve essere sempre netta ed evidente e lo sfondo della membrana deve rimanere di un colore rosa pallido. Qualora il punto C non si colora e la membrana si colora di un rosa pallido il test è da considerarsi invalido. Si raccomanda di effettuare un test di validazione iniziale usando sieri di controllo positivi e negativi.

LIMITAZIONI

- I valori ottenuti con il test sono destinati ad essere un ausilio per la diagnosi di infezione da Herpes. L'interpretazione clinica richiede anche un'attenta valutazione della storia del paziente, visite mediche ed altre procedure diagnostiche.

RISULTATI ATTESI

L'HSV IgG dipende in prevalenza dall'età, dall'attività sessuale e dallo status economico-sociale. La positività può variare dallo zero nei giovanissimi al 50% (HSV 2) e oltre il 90% (HSV 1) in anziani e soggetti sessualmente attivi.

PERFORMANCE

ImmunoFLOW HSV rileva 2 analiti: HSV IgG Totali e HSV 2 IgG. La performance del kit è stata valutata utilizzando 84 sieri di soggetti sani. La sensibilità e la specificità del test HSV Totale è stata determinata comparando il kit con i test ImmunoWELL™ HSV IgG Total e Captia™ Herpes Group IgG ELISA, Tabella 1. La sensibilità e la specificità del test HSV 2 IgG è stata determinata comparando il kit con il test ImmunoWELL™ HSV-2 IgG e HerpeSelect® 2 ELISA, Tabella 2.

Tabella 1

Kit	HSV Positivo	HSV Negativo
Captia™	69/70	14/14
ImmunoWELL™	69/70	14/14

Soltanto un ImmunoFLOW HSV Total è risultato equivoco. **Sensibilità 99% Specificità 100%.**

Tabella 2

Kit	HSV-2 Positivo	HSV-2 Negativo
HerpeSelect®	32/32	52/52
ImmunoWELL™	32/32	52/52







Sensibilità 100% Specificità 100%.

La riproducibilità è stata misurata testando 6 standard in corrispondenza del cut-off. Per ogni campione sono stati eseguiti sei dosaggi in duplicato. Ogni test è stato valutato indipendentemente da tre persone. La precisione del saggio è vicina al 5% per l'HSV Totale e al 6% per l'HSV-2.

BIBLIOGRAFIA

- Nahmias, A., and W. Dowdle. 1968 Antigenic and biologic differences in herpesvirus hominis. *Prog. Med. Virol.* 10:110-159.
- Schnewels, K.E. 1962. Serologische untersuchungen zur typendifferenzierung des herpesvirus hominis. *Z. Immunitaetsforsch.* 124:24.48.
- Ashley, R.L., and A Wald. 1999. Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology. *Clin. Microbiol. Rev.* 12(1): 1-8.
- Brown, Z. A., J.K. Benedetti, D.H. Watts, S. Selke, S. Berry, R. Ashley, and L. Corey. 1995. A comparison between detailed and simple histories in the diagnosis of genital herpes complicating pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 172:1299-1303.
- Bernstein, D.I., M.A. Lovett, and Y.J. Bryson. 1984. Serologic analysis of first-episode nonprimary genital herpes simplex virus infection. *Am. J. Med.* 77:1055-1060.
- Ho, d.W.T., P.R. Fireld, E. Sjogren-Jansson, S. Jeansson, and A.L. Cunningham. 1992. Indirect ELISA for the detection of HSV-2 specific IgG and IgM antibodies with blycoprotein G (gG-2). *J. Virol. Methods* 36:249-264.
- Holmberg, S.D., J.A. Stewart, G. russel, R.H. Byers, F.K. Lee, P.M. O'Malley, and A. J. Nahmias. 1988. Prior herpes simplex virus type 2 infection as a risk factor for HIV infection. *JAMA* 259:1048-1050.
- McGeoch, D.J., H.W. Moss, D. McNab, and M.C. Frame. 1987. DNA sequence and genetic content of the HindIII region in the short unique component of herpes simplex virus type 2 genome: identification of the gene encoding glycoprotein G, and evolutionary comparisons. *J. Gen. virol.* 68:19-38.
- Rapoport, T.A. 1986. Protein translocation across and integration into membranes. *Crit Rev biochem.* 20:73-137
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030, Occupational safety and health standards, bloodborne pathogens.
- US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, HHS Publication No. (CDC) 21-1112. December 2009.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.

SIMBOLOGIA

	Use by Date	IVD	In vitro diagnostic medical device
LOT	Batch Code	EC REP	Authorized Representative in the European Community
	Caution, consult Accompanying documents		Limit of Temperature
	Manufacturer	REF	Catalogue Number
	Contains sufficient for <n> tests	CONT	Contents
	Do not reuse	CE	Conformite Europeenne

Codice CND: W0105040303

Produttore

 **GenBio**

Innominata dba GenBio
15222 Avenue of Science, Suite A
San Diego, CA 92128
Toll Free 800-288-IDOT (4368)
FAX: +1 858.592.9400

EC	REP	<small>EMERGO EUROPE Molenstraat 15 2513 BK, The Hague The Netherlands Tel: +31 (0)70 345 6570 Fax: +31 (0)70 346 7299</small>
-----------	------------	--

ITALY CONTACT



Meridian Healthcare srl
68, via G. Guglielmino
Tremestieri Etneo, CT 95030
Phone: +39 095 725 68 69
FAX: +39 095 725 44 54