

## HAV IgG/IgM CARD

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test rapido immunocromatografico per la determinazione differenziata degli anticorpi IgG e IgM del virus dell'Epatite A (HAV) su siero, plasma o sangue intero

### I. DESTINAZIONE D'USO

HAV IgG/IgM Card è un test immunocromatografico a flusso laterale per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG e IgM del virus dell'Epatite A (HAV) in campioni di siero, plasma o sangue intero. Il test è destinato ad essere utilizzato nei laboratori clinici per la diagnosi di epatite A acuta e il monitoraggio di pazienti collegati ad infezione da virus dell'epatite. I risultati di ogni campione testato con HAV IgG/IgM Card devono essere confermati da altri metodi e dai dati clinici.

### II. SOMMARIO E DESCRIZIONE DEL TEST

L'HAV è un virus a singola catena di RNA, della famiglia dei Picornaviridae<sup>1</sup>. Principalmente si trasmette da persona a persona per via oro-fecale. Sebbene l'epatite A non è di solito una malattia sessualmente trasmessa, il tasso di infezione è alto tra gli omosessuali maschi, in conseguenza di contatto orale- anale<sup>2,3</sup>.

La presenza di IgM anti-HAV specifiche nei campioni di sangue presuppone un'infezione da HAV recente o acuta<sup>4-6</sup>. Nella maggior parte dei pazienti, il titolo degli anticorpi IgM aumenta rapidamente dopo 4-6 settimane dall'infezione e tende a diminuire a livelli non rilevabili in un arco di tempo di 3-6 mesi<sup>7</sup>. La presenza di IgG anti-HAV può essere rilevata alla comparsa dei primi sintomi e si mantiene elevata per tutta la vita<sup>8</sup>.

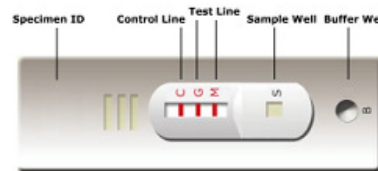
Il test HAV IgG/IgM Card è in grado di determinare la presenza simultanea e differenziata di anticorpi IgG e/o IgM anti-HAV in meno di 15 minuti; non richiede personale particolarmente addestrato e non necessita di attrezzature da laboratorio ingombranti e costose.

### III. PRINCIPIO

HAV IgG/IgM Card è un test immunocromatografico a flusso laterale. La card è composta da oro colloidale coniugato con anticorpi anti IgG e anti IgM umane (coniugato IgG e coniugato IgM) e da una membrana di cellulosa su cui sono seminate due bande test (banda G e banda M) con anticorpi IgG e IgM oltre ad una banda di controllo (banda C).

Quando viene dispensata nel pozzetto S una giusta quantità di campione, esso migra lungo la membrana per capillarità e gli anticorpi IgG e/o IgM anti-HAV eventualmente presenti nel campione si legano al coniugato IgG e/o IgM dell'oro colloidale. Gli antigeni HAV specifici fissati sulla membrana catturano l'immunocomplesso formando una linea colorata (banda G e/o M), indice di positività. L'assenza di queste bande indica un risultato negativo.

Il test contiene un controllo interno (banda C) che si manifesta con la comparsa di una banda colorata data dalla formazione di un immunocomplesso indipendentemente dalla presenza delle bande test. In altri casi, il test è da considerarsi non valido e il campione deve essere retestato con un'altra card.



### IV. COMPOSIZIONE DEL KIT

- Ogni kit contiene 30 dispositivi test, chiusi in una busta sigillata contenente:
  - una card (cassetta).
  - una bustina di essiccante.
- tubo capillare da 5 µL
- Diluente del campione (1 flacone, 5 mL)
- Istruzioni per l'uso.

### Materiale necessario ma non fornito

Timer

### V. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

I componenti del kit si conservano a temperatura ambiente (tra +2°C e +30°C). Non congelare. HAV IgG/IgM Card è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

### VI. PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico *in vitro* e solo per uso professionale.
- Manipolare tutti i campioni come fossero campioni infettivi.
- Indossare indumenti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso. Evitare qualsiasi contatto con le mani, gli occhi o con il naso durante il prelievo dei campioni e durante il test.
- Non mangiare, bere o fumare durante l'analisi.
- Non usare campioni di sangue emolizzato per il test.
- Non usare oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta della confezione.
- Non usare se la busta protettiva è danneggiata.

### VII. PREPARAZIONE DEI REAGENTI E ISTRUZIONI DI CONSERVAZIONE

Tutti i reagenti forniti sono pronti all'uso. Conservare i dispositivi test non ancora aperti a 2°C-30°C. Se conservati a 2°C-8°C, assicurarsi che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente prima di essere aperti. Il dispositivo test è stabile fino alla data di scadenza riportata sulla busta. Non congelare o esporre a temperature superiori a 30°C.

### VIII. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEL CAMPIONE

Considerare il materiale di origine umana come potenzialmente infettivo e manipolare secondo le procedure standard di biosicurezza.

#### Plasma

- Raccogliere i campioni di sangue in provette con tappo viola, blu o verde (contenenti rispettivamente EDTA, citrato o eparina in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.
- Separare il plasma per centrifugazione.
- Trasferire il plasma in un'altra provetta contrassegnata.

#### Siero

- Raccogliere i campioni di sangue in una provetta con tappo rosso (senza anticoagulanti in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.
- Attendere che il sangue coaguli.
- Separare il siero per centrifugazione.
- Trasferire il siero in un'altra provetta contrassegnata.

Testare i campioni il prima possibile. Conservare i campioni a 2°C-8°C se non testati immediatamente per un massimo di 5 giorni. Per un periodo più prolungato conservarli congelati a -20°C. Evitare continui congelamenti e scongelamenti.



Prima di effettuare il test, scongelare e portare a temperatura ambiente lentamente i campioni, agitandoli delicatamente. I campioni che contengono materiale corpuscolare devono essere centrifugati.

## Sangue intero

Il sangue può essere ottenuto con un pungidito o con puntura venosa. Conservare il sangue in provette viola, blu o verde (contenenti rispettivamente EDTA, citrato o eparina). Non utilizzare sangue emolizzato per il test. Conservare i campioni a 2°-8°C se non testati immediatamente dopo il prelievo. Testare entro 24 ore.

## IX. PROCEDIMENTO

- 1- Lasciare che i campioni e i reagenti refrigerati raggiungano temperatura ambiente. Miscelare bene i campioni prima di usarli.
- 2- Aprire la busta ed estrarre la card. Metterla su una superficie piana e pulita
- 3- Identificare la card con il numero del campione.
- 4- Riempire la pipetta capillare con il campione fino alla tacca dei 5µL. **Per una maggior precisione usare una pipetta della capacità di 5 µL.**

Tenendo la pipetta in posizione verticale, dispensare il contenuto della pipetta capillare nel pozzetto **S** evitando la formazione di bolle d'aria.

Aggiungere immediatamente 2 gocce (circa 60-80 µL) di Diluente del campione nel pozzetto **B**, tenendo il flacone in posizione verticale.



5 µL siero/plasma/sangue intero nel pozzetto S

2 gocce di diluente del campione nel pozzetto B

5- Far partire il cronometro.

6- Il risultato è leggibile entro 15 minuti. I risultati positivi potrebbero essere visibili anche entro 1 minuto.

**Non leggere oltre i 15 minuti. Per evitare confusione gettare i test subito dopo la loro interpretazione. Consiglio: fotografare il risultato con una macchina digitale per conservarlo.**

## X. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

**NEGATIVO:** formazione della sola banda di controllo. Nel campione non c'è una quantità sufficiente di anticorpi IgG o IgM anti-HAV. Il risultato è negativo.



**IgG POSITIVO:** colorazione di entrambe le bande C e G. Nel campione è presente una quantità di anticorpi IgG anti-HAV rilevabile. Il risultato indica la possibilità della fase acuta dell'infezione o infezione progressa.



**IgM POSITIVO:** colorazione di entrambe le bande C e M. Il risultato indica la possibilità di un'infezione recente.



**IgG e IgM POSITIVO:** colorazione delle linee C, G ed M. Il risultato indica la possibilità della fase acuta dell'infezione.



*I campioni che risultano positivi dovrebbero essere confermati da metodi alternativi e da dati clinici prima della diagnosi definitiva. Livelli di fattore reumatoide (RF)  $\geq 1.000$  IU/ml possono fornire risultati falsamente positivi. Vedi paragrafo "Limiti del test, punto 6".*

**NON VALIDO:** se non compare la banda di controllo (C) il test non è valido, indipendentemente dalla presenza delle bande test (G e M). Ripetere il test con una nuova card.



## XI. CARATTERISTICHE FUNZIONALI

**Sensibilità analitica determinazione IgG:** E' stato ricostituito con acqua uno standard internazionale WHO e si sono ottenute diluizioni successive per la titolazione. Si sono eseguite 20 ripetizioni. E' stato definito un limite di sensibilità di 70mIU/ml.

**Accuratezza determinazione IgG:** sono stati confrontati 200 campioni utilizzando il test HAV IgG/IgM Card e un test rapido presente in commercio. I risultati sono raccolti nella seguente tabella:

Riferimento	HAV IgG/IgM Card		Totale
	Positivo	Negativo	
Positivo	125	0	125
Negativo	4	71	75
Totale	129	71	200

Sensibilità relativa: 100.0%, Specificità relativa: 94.7%, Accuratezza: 98.0%



**Accuratezza determinazione IgM:** sono stati confrontati 306 campioni utilizzando il test HAV IgG/IgM Card e un test ELISA anti-HAV IgM presente in commercio. I risultati sono raccolti nella seguente tabella:

Riferimento	HAV IgG/IgM Card		Totale
	Positivo	Negativo	
Positivo	91	5	96
Negativo	7	203	210
<b>Totale</b>	98	208	306

Sensibilità relativa: 94.8%, Specificità relativa: 96.7%, Accuratezza: 96.1%

**Tasso di positività su campioni clinici:** sono stati testati 990 campioni random con il test HAV IgG/IgM Card. Il tasso di positività è stato del 70.4% per IgG anti-HAV e del 4.6% per IgM anti-HAV.

**Cross-reattività:** non sono stati trovati risultati positivi per IgG e IgM su campioni derivati da particolari malattie e condizioni speciali qui di seguito indicate:

HBV	HCV	HEV	HIV	hCG
Dengue	<i>H. pylori</i>	Malaria	TB	<i>T. pallidum</i>
Typhoid	ANA	HAMA	RF (fino a 1000 IU/ml)	

**Interferenze:** Alcune sostanze comuni (componenti del sangue, farmaci contro la febbre e il dolore) potrebbero influenzare le performances del test HAV IgG/IgM Card. Uno studio ha permesso di definire che fino alla concentrazione indicata nella tabella sottostante le sostanze indicate non interferiscono con il risultato del test.













Albumina	60 g/L	emoglobina	2 g/L
Bilirubina	20 mg/dL	Eparina	3.000 U/L
Creatinina	442 µmol/L	Acido salicilico	4.24 mmol/L
EDTA	3.4 µmol/L	Sodio citrato	3.4%
Glucosio	55 mmol/L		

## XII. LIMITI

- Devono essere seguite attentamente tutte le istruzioni per il procedimento del test e l'interpretazione dei risultati. In caso contrario si potrebbero generare risultati non accurati.
- Il test HAV IgG/IgM Card permette la determinazione qualitativa delle IgG e/o IgM anti-HAV in siero umano, in plasma o in sangue intero. Non utilizzare su altri tipi di campioni. L'intensità delle bande test non indica una correlazione lineare con la concentrazione degli anticorpi nel campione.
- Un risultato negativo non preclude la possibilità di esposizione all'infezione con HAV. Si può avere un risultato negativo se la quantità di anticorpi presente nel campione è inferiore al limite di rilevabilità del test, o se gli anticorpi che vengono rilevati non sono presenti al momento del prelievo in una determinata fase della malattia.
- Un risultato negativo non esclude un'infezione acuta da HAV. I campioni prelevati troppo precocemente nel corso dell'infezione potrebbero non contenere livelli di IgM rilevabili.
- L'infezione può progredire velocemente. Se i sintomi persistono nonostante i risultati con il test HAV IgG/IgM Card siano negativi o non reattivi, si consiglia di analizzare i campioni con metodi alternativi o ritestare il paziente dopo alcuni giorni.
- Raramente alti titoli di anticorpi eterofili o fattore reumatoide ( $\geq 1000$  IU/mL) possono alterare i risultati attesi.
- I risultati ottenuti con questo test dovrebbero essere interpretati solo insieme ad altri test diagnostici e supportati da dati clinici.

## XIII. BIBLIOGRAFIA

- Minor P. Picornaviridae. In: Francki RIB, Fauquet CM, Knudson DL, et al., eds. Classification and nomenclature of viruses (Arch Virol Supp 2). Wien: Springer-Verlag, 1991:320-326.
- Keefe EB. Clinical approach to viral hepatitis in homosexual men. *Med Clin North Am.* 1986;70(3):567-86.
- Ballesteros J, Dal-Re R, Gonzalez A, del Romero J. Are homosexual males a risk group for hepatitis A infection in intermediate endemicity areas? *Epidemiol Infect.* 1996; 117(1):145-8.
- Bradley DW, Maynard JE, Hindman SH, et al: Serodiagnosis of viral hepatitis A: Detection of acute-phase immunoglobulin M anti-hepatitis A virus by radioimmunoassay. *J Clin Microbiol* 1977; 5: 521-530.
- Decker RH, Kosakowski SM, Vanderbilt AS, et al: Diagnosis of acute hepatitis A by HAVAB-M : A direct radioimmunoassay for IgM anti-HAV. *Am J Clin Pathol* 1981;76:140-147.
- Locarnini SA, Ferris AA, Lehman NI, et al: The antibody response following hepatitis A infection. *Intervirology* 1974; 4:110-118.
- Skinhoj P, Mikkelsen F, Hollinger FB. Hepatitis A in Greenland: Importance of specific antibody testing in epidemiologic surveillance. *Am J. Epidemiol* 1977; 105: 104-147
- World Health Organization, Hepatitis A. 2000
- Fiore AE, Wasley, A, Bell BP, Prevention of Hepatitis A. Through Active or Passive Immunization, CDC 2006. 55(RR07):1-23.
- Jacobsen KH, Koopman JS. Declining hepatitis A seroprevalence: a global review and analysis. *Epidemiol Infect* 2004. 132:1005-22.

 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura	 LOT	Codice del lotto (EXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)	 REF	Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

## CONTENUTO

Card (cassetta)  
Pipetta capillare  
Diluente del campione  
Istruzioni per l'uso

## Cod. VR82006 (30 test)

30 pezzi  
30 pezzi  
1 x 5 mL  
1 pezzo

Codice Ramo CND W0105020102

