



ASSURE HEV IgM RAPID TEST Istruzioni per l'Uso



DATA DI REVISIONE: 2016-07 **Nota: modifiche evidenziate**
MDH0011-ITA-4

REF 43160-020 (20 kit per test)

NOME COMMERCIALE E FINALITÀ D'USO

Il prodotto **MP Diagnostics ASSURE HEV IgM Rapid Test** è un test immunocromatografico finalizzato alla rilevazione degli anticorpi IgM del virus dell'Epatite E (HEV) in siero umano, plasma o sangue intero. E' utilizzato come test per la diagnostica clinica per diagnosticare infezioni da Epatite E.

INTRODUZIONE

L'Epatite E è conosciuta come epatite non-A non-B trasmessa entericamente (ET-NANB) e l'agente eziologico per questa malattia è stato ben definito come un virus non racchiuso, senso positivo, a singola catena RNA denominato come virus dell'epatite E (HEV) (1-3). Sebbene la malattia si autolimita con una incidenza di mortalità dall'1 al 3% in generale nelle popolazioni adulte, l'epatite E nelle donne in gravidanza può assumere forme più severe con una incidenza di casi fatali sino al 20%, in particolare durante il terzo trimestre (4). L'aumentata evidenza suggerisce che questa epatite si sviluppa non solo in aree di sviluppo quali l'Asia Centrale e l'Asia del Sud, Africa del Nord e dell'Est, medio oriente e Messico, ma anche in paesi industrializzati ed aree che includono USA, Giappone ed Europa. Quindi, la malattia potrebbe essere diffusa di quanto precedentemente riconosciuto (5-6).

Come strumenti attualmente disponibili per la rilevazione della malattia rimangono la maggior parte dei test di laboratorio che richiedono personale ben addestrato e strumentazioni specializzate, un test rapido e semplice che permette una rilevazione precoce nell'area ambulatoriale dove le attrezzature di laboratorio non sono facilmente accessibili è, dunque, una necessità non soddisfatta per la gestione dell'epatite E. Il prodotto **MP Diagnostics ASSURE HEV IgM Rapid Test** è stato sviluppato per rispondere a queste esigenze. Il nuovo test immunocromatografico a flusso-inverso (7) ed utilizza anticorpi anti-umani IgM immobilizzati di topo per catturare gli anticorpi IgM nei campioni da testare. La presenza di anticorpi catturati IgM specifici per l'HEV è rilevata da anticorpi monoclonali anti-HEV marcati con oro-colloidale (8) pre-miscelati dalla proteina ricombinante marcata all'oro (9-10).

DESCRIZIONE DEI SIMBOLI UTILIZZATI

Sui prodotti MP Diagnostics e relative confezioni si possono trovare i simboli grafici riportati di seguito. Sono i simboli generalmente utilizzati per l'etichettatura dei dispositivi medici e dei relativi imballi. Alcuni dei simboli comuni sono spiegati con maggiori dettagli nella norma europea e internazionale EN ISO 15223: 2012.

	Utilizzare entro <i>Sinonimo:</i> Data di scadenza	IVD	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Codice del lotto <i>Sinonimo:</i> Numero di lotto Numero di partita	REF	Numero di catalogo
	Limiti di temperatura		Attenzione. Vedere le Istruzioni per l'uso
	Fabbricante	EC REP	Mandatario nella Comunità Europea
	Contenuto sufficiente per <n> saggi		Consultare le Istruzioni per l'uso
	Non riutilizzare		

PRINCIPI CHIMICI E BIOLOGICI DELLA PROCEDURA

Il prodotto MP Diagnostics **ASSURE HEV IgM Rapid Test** è un saggio immunocromatografico a cattura su fase solida. Tutti gli anticorpi della classe IgM, quando presenti nel campione da analizzare, possono essere catturati da anticorpi anti-umano IgM immobilizzati sulla membrana. La presenza di anticorpi IgM HEV specifici può essere rilevata in modo differenziale da un immunocomplesso di anticorpi anti-HEV marcati con un antigene colloidale marcato all'oro HEV immobilizzato nel sistema e può essere visualizzato come linee viola/porpora dopo il test. In aggiunta, anticorpi IgG immobilizzati di coniglio che possono essere riconosciuti da anticorpi IgG anticonglio marcati con oro colloidale sono stati usati come controllo per il corretto funzionamento dei reagenti.

COMPONENTI DEL KIT

DEVICE	Sistema MP Diagnostics ASSURE HEV IgM Rapid Test in confezione singola con sacchetto termosaldato contenente essiccate. Conservare a 2°C-28°C	20 sistemi
BUFFER	Tampone di estrazione contenente lo 0,02% di Thimerosal e lo 0,01% di Triton-X 100 Stoccare entro +2°C e -28°C	1 fiala (5 ml)
APPLICATOR	APPLICATORE DEL CAMPIONE Venti applicatori di campione di materiale plastico, ciascuno con marcatori a 25 µl e 35 µl	20 unità
	Istruzioni per l'Uso	1 copia

INFORMAZIONI PER LA SALUTE E LA SICUREZZA

- In caso di un incidente o contatto con gli occhi, lavare immediatamente con abbondante acqua e cercare supporto medico.
- Consultare immediatamente un medico nel caso i materiali di contaminazione fossero ingeriti, oppure vengano a contatto con lacerazioni aperte o altre abrasioni sulla pelle.
- Rimuovere immediatamente qualsiasi fuoriuscita di siero, plasma o sangue con soluzione di sodio ipoclorito all'1%.
- Autoclavare tutti i materiali usati e contaminati a 121°C, 15 psi per 30 minuti prima di eliminarli. Alternativamente, decontaminare i materiali in soluzione di ipoclorito di sodio al 5% per 30-60 minuti prima di eliminarli in buste biohazard.

In conformità con il Regolamento CE 1272/2008 (CLP) i componenti pericolosi sono classificati ed etichettati come segue:

Componente:	CHASE BUFFER
Simbolo di avvertenza:	Avvertenza
Pittogramma:	
Frase di rischio:	H319 Provoca grave irritazione oculare.
Consigli di precauzione:	P264 Lavare accuratamente mani dopo l'uso. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
Dichiarazioni supplementari:	La scheda dati di sicurezza EUH210 è disponibile a richiesta
Contiene:	1% Triton X-100

PRECAUZIONI ANALITICHE:

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Solo per uso da parte di "utenti professionali".
- Fare riferimento alla etichettatura del prodotto per informazioni su componenti potenzialmente pericolosi.
- Indossare i guanti in accordo alle circostanze.
- Le ottime prestazioni del test richiedono una stretta aderenza alle procedure del dosaggio descritte nelle Istruzioni per l'Uso. Deviazioni dalla procedura possono portare a risultati aberranti.
- Non scambiare reagenti tra lotti diversi di kits.
- Non usare i componenti del kit oltre la data di scadenza stampata sulla confezione.
- I reagenti forniti non dovrebbero presentare un pericolo alla salute se usati in accordo alle istruzioni fornite.
- Per un miglior risultato sia i reagenti che i campioni da analizzare devono essere a temperatura ambiente (25°C +/- 3°C) prima dell'uso.

CONSERVAZIONE

- Conservare l'intero contenuto del kit a 2°C-28°C. I sistemi del test devono essere mantenuti sigillati sino al loro utilizzo.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

- Lancette pungidito
- Tamponcini di soluzione disinfettante

PRECAUZIONI DI SICUREZZA

- Autoclavare tutti i materiali usati e contaminati a 121°C, 15 psi per 30 minuti prima della loro eliminazione. Alternativamente, decontaminare i materiali in soluzione di ipoclorito di sodio al 5% per 30-60 minuti, prima della loro eliminazione in sacchi biohazard.
- Rimuovere prontamente qualsiasi traccia di siero, plasma o sangue con soluzione all'1% di ipoclorito di sodio.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Il sangue intero può essere raccolto in tubi contenenti anti-coagulante ed utilizzati come indicato nella procedura, immediatamente o conservati a 2°C-8°C per non più di 48 ore prima dell'uso.

I campioni di siero/plasma dovrebbero essere conservati a 2°C-8°C se il test viene effettuato entro 7 giorni dal prelievo oppure congelato a -20°C o più se il test viene ritardato oltre i 7 giorni. Sono da preferire i campioni limpidi non emolizzati. Campioni lipemici, itterici o contaminati (particolato) dovrebbero essere filtrati (0,45 µm) o centrifugati prima dell'uso.

I campioni possono essere inattivati, tuttavia ciò non è indispensabile per ottenere risultati ottimali.

Per l'inattivazione, procedere nel modo seguente:

- Allentare il cappuccio del contenitore del campione.
- Inattivare il campione a caldo riscaldandolo a 56°C per 30 minuti in un incubatore ad acqua.
- Lasciare raffreddare il campione prima di serrare nuovamente il cappuccio.
- Fino al momento dell'analisi il campione può essere conservato congelato.

Si raccomanda di non sottoporre il campione a ripetuti cicli di congelamento e scongelamento.

PROCEDURA DEL TEST

IMPORTANTE: una stretta aderenza alla procedura del test assicura una ottima prestazione del dosaggio. Deviazioni possono portare a risultati aberranti.

Note: Permettere al kit di raggiungere la temperatura ambiente prima di condurre il dosaggio. Se viene riscontrato del precipitato nel reagente tampone chase, agitare il flacone vigorosamente e portarlo a temperatura ambiente. Omettere questo passaggio se il kit è stato conservato tra i 18°C e i 28°C.

- Marcare l'elemento con il nominativo del campione.
- Utilizzare la procedura di dosaggio appropriata come da diagramma mostrato qui sotto.
- Prima di prelevare sangue totale, strofinare l'estremità del dito usando un tampone all'alcohol, lasciare asciugare e ed in seguito pungere. Tenere il dito all'insù. Prelevare il sangue a mezzo dell'applicatore fornito fino alla misura di 35 µl (apporre una leggera pressione sulla sezione a forma di bulbo prima di procedere con il prelievo. Distribuire tutto il campione nell'apposito pozzetto.

Diagramma 1: Dosaggio con siero o plasma

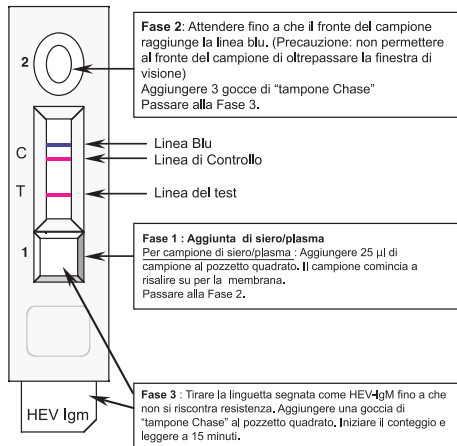
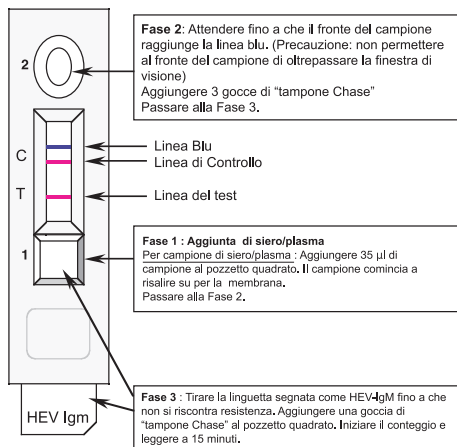
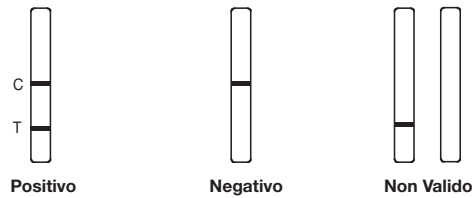


Diagramma 2: Dosaggio con sangue totale



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



Le bande colorate appariranno nelle posizioni indicate come "C" e "T" con le seguenti interpretazioni:

- Positivo** per gli anticorpi HEV-IgM se le bande colorate appaiono in corrispondenza della linea di test (T) e della linea di controllo (C). Qualsiasi intensità di banda è da considerarsi come positivo.
- Negativo** per gli anticorpi HEV-IgM se la banda colorata appare solo in corrispondenza della linea di controllo (C), attraverso la finestra di lettura.
- Non Valido** se la linea di controllo (C) è assente. Se questo accade il dosaggio deve essere ripetuto utilizzando un nuovo sistema.

LIMITAZIONE DELLA PROCEDURA

Un'ottima prestazione del saggio richiede una stretta adesione alla procedura di esecuzione del saggio stesso. Un risultato NEGATIVO non esclude la possibilità di esposizione a o infezione da HEV.

PRESTAZIONI

Specificità e sensibilità

Le prestazioni di ASSURE HEV IgM Test Rapido sono state valutate utilizzando 582 campioni di sangue, dei quali 277 con siero positivo all' Epatite e 305 campioni sani. La sensibilità e la specificità di ASSURE HEV IgM Rapid Test sono state rispettivamente del 100% (277/277) e 94,41% (291/305) come da Tabella 1.

Tabella 1: Tabella ricapitolativa Dati

Gruppi di siero e stato dei pazienti	N° di positivi & Prestazioni %
Siero di pazienti affetti da Epatite E Sensibilità Totale	277/277 100.00% (95% CI: 98.68 to 100.00)
Donatori sani Specificità Totale	291/305 95.41% (95% CI: 92.42 to 97.47)
Valore di Predizione Positivo Totale	95.19% (95% CI: 92.06 to 97.35)
Valore di Predizione Negativo Totale	100.00% (95% CI: 98.74 to 100.00)

BIBLIOGRAFIA

- Reyes, G. R., M. A. Purdy, J. P. Kim, K. C. Luk, L.M. Young, K. E. Fry, and D. W. Bradley.** 1990. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science*. **274**: 1335-1339.
- Tam, A. W., M. M. Smith, M. E. Guerra, C. C. Huang, D. W. Bradley, K. E. Fry, and G. R. Reyes.** 1991. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*. **185**:120-131.
- Huang, C. C., D. Nguyen, J. Fernandez, K. Y. Yun, K. E. Fry, D. W. Bradley, A. W. Tam, and G. R. Reyes.** 1992. Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). *Virology*. **191**: 550-558.
- Hussani, S. H., S. J. Skidmore, P. Richardson, L. M. Sherratt, B. T. Cooper, and J. G. O'Grady.** 1997. Severe hepatitis E infection during pregnancy. *J. Viral Hepat.* **4**:51-54
- Emerson, S. U., and R. H., Purcell.** 2003. Hepatitis E virus. *Rev. Med. Virol.* **13**: 145-154.
- Worm, H. C., and G. Wirnsberger.** 2004. Hepatitis E vaccines: progress and prospects. *Drug.* **64**:1517-1531.
- Guan, M., H. Y. Chen, T. P. Chow, A. R. Pereira, and P. K. Mun.** November 2001. Assay devices and methods of analyte detection. U.S. Patent 6, 316, 205.
- Riddell, M. A., F. Li, and D. A. Anderson.** 2000. Identification of immunodominant and conformational epitopes in the capsid protein of hepatitis E virus by using monoclonal antibodies. *J. Virol.* **74**: 8011-8017.
- Anderson, D. A., F. Li, M. Riddell, T. Howard, H-F. Seow, J. Torresi, G. Perry, D. Sumaridisi, S. M. Shrestha, and I. L. Shrestha.** 1999. ELISA for IgG-class antibody to hepatitis E virus based on a highly conserved, conformational epitope expressed in *Escherichia coli*. *J. Virol. Methods.* **81**: 131-142.
- Li, F., J. Torresi, S. A. Locarnini, H. Zhuang, W. F. Zhu, X. X. Guo, and D. A. Anderson.** 1997. Amino-terminal epitopes are exposed when full-length open reading frame 2 of hepatitis E virus is expressed in *Escherichia coli*, but carboxy-terminal epitopes are masked. *J. Med. Virol.* **52**:289-300.
- Chen, H.Y., Y. Lu, T. Howard, D. Anderson, P. Fong, W. P. Hu, C. P. Chia and M. Guan.** Comparison of a New Immunochromatographic Test to Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Rapid Detection of Immunoglobulin M Antibodies to Hepatitis E virus in Human sera. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005 12(5): 593 – 598.

ESCLUSIONE DI GARANZIA E GARANZIA LIMITATA/ESPRESSA

Il produttore non fornisce altra garanzia esplicita per il kit, tranne l'uso come dosaggio diagnostico in vitro nel quadro delle specifiche e delle limitazioni indicate nel Istruzioni per l'Uso prodotto, sempre se viene usato seguendo le istruzioni ivi fornite. Il produttore non fornisce alcuna garanzia, espressa o implicita, compresa qualsiasi garanzia espressa o implicita di commerciabilità, adeguatezza all'uso o utilità implicita ad altri scopi. Il produttore riconosce solo la sostituzione del prodotto o il rimborso del prezzo di acquisto del prodotto stesso. Il produttore non potrà essere ritenuto responsabile nei confronti dell'acquirente o di terzi per danni, lesioni o danni economici di qualsiasi entità comunque causa.

PROBLEMI TECNICI / RECLAMI

In caso di problemi tecnici o di reclami, attenersi alla seguente procedura:

- Annotare il numero di lotto del kit, la data di scadenza e il numero di lotto della striscia.
- Conservare i kit e risultati ottenuti.
- Contattare il più vicino centro MP Biomedicals o il propriodistributore locale.



MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.
2 Pioneer Place
Singapore 627885

N. tel. : + 65 6775 0008
N. fax : + 65 6774 6146
E-mail: enquiry_ap@mpbio.com



MP Biomedicals Germany GmbH
Thüringer Straße 15
37269 Eschwege
Germania
N. tel. : +49 5651 921 204
N. fax : +49 5651 921 181
E-mail : diagnostics@mpbio.com

Sedi regionali:

MP Biomedicals Germany GmbH
Thüringer Straße 15
37269 Eschwege
Germania
N. tel. : +49 5651 921 204
N. fax : +49 5651 921 181
E-mail : diagnostics@mpbio.com

- * US Patent 5,741,490; 5,770,689; 5,885,768; 5,686,239; 6,514,690 B1; 6,316,205
- * Singapore Patent 39445, 49225
- * Australia 644878; 694139
- * Taiwan 63167
- * S Korea 178399; 180530
- * EPO Patent 623169
- * China 50064; 1,075,112C

CONTROLLO DI QUALITA'

- Saggiare dei controlli positivi e negativi (non inclusi) è considerato opzionale
- La linea di controllo contiene un colorante blu che è la sola linea visibile prima di effettuare il dosaggio. Questa linea scomparirà alla fine del dosaggio.
- Se la linea di controllo alla posizione C non diventa visibile, il test è da ritenersi non valido. Campioni positivi avranno una banda addizionale colorata nella posizione T.