



HTLV BLOT 2.4 DOSAGGIO WESTERN BLOT

Manuale di istruzioni

CE 0123	
-----------------------	--

DATA DI REVISIONE: 2019-03	Nota: modifiche evidenziate
MAK0011-ITA-6	

REF	(kit da 18 test) : 11080-018 (kit da 36 test) : 11080-036
------------	--

NOME E USO PREVISTO
<p>Il kit HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics è un dosaggio immunoenzimatico qualitativo per il rilevamento <i>in vitro</i> di anticorpi contro i virus HTLV-I e HTLV-II nel siero o plasma umani. Viene considerato come un test supplementare più specifico su campioni di siero o plasma umani che sono stati trovati ripetutamente reattivi mediante l'uso di procedure di screening come i test immunoenzimatici ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assays).</p>
INTRODUZIONE
<p>Studi epidemiologici recentemente compiuti negli Stati Uniti e in Europa hanno confermato la presenza di una prevalenza mista di HTLV-I e HTLV-II in diverse popolazioni ad alto rischio, come coloro che fanno uso di droghe per via endovenosa. I test di screening per HTLV-III sono facilmente ottenibili. I campioni trovati ripetutamente reattivi con i test di screening necessitano di ulteriori test più specifici per confermare la sieropositività a HTLV-I o HTLV-II. Tali test supplementari devono essere in grado di identificare gli anticorpi contro le proteine del core (<i>gag</i>) e dell'envelope (<i>env</i>) di HTLV-I e HTLV-II. Uno dei test supplementari più comunemente utilizzati è la Western Blot con incorporati gli antigeni nativi virali dell'HTLV-I. Tuttavia, a causa della mancanza di antigeni nativi virali nel Western Blot per HTLV-I classico, risulta spesso necessario utilizzare metodi di radioimmunoprecipitazione per l'ulteriore conferma della presenza di anticorpi contro HTLV-I/II. La differenziazione dei campioni sieropositivi per HTLV-I e HTLV-II richiede test supplementari (per es. peptidi specifici, ELISA, PCR).</p> <p>Per questo motivo è necessario avere a disposizione test sierologici semplici, ma allo stesso tempo specifici e sensibili, che permettano la conferma e la differenziazione rapida dei campioni sieropositivi per HTLV-I e HTLV-II.</p>
<p>Il kit HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics ha migliorato i livelli di sensibilità e specificità sia per la conferma che per la differenziazione dei campioni sieropositivi per HTLV-I e HTLV-II. Questo è stato possibile grazie all'incorporazione di MTA-1, una proteina ricombinante unica dell'envelope dell'HTLV-I (rgp46-I), K55, una proteina ricombinante unica dell'envelope dell'HTLV-II (rgp46-II) e GD21, un epitope ricombinante dell'envelope, comune ma specifico, di HTLV-I e HTLV-II. Ciascuna striscia contiene anche un controllo campione interno aggiuntivo, per minimizzare il rischio di falsi negativi dovuti ad errori procedurali.</p>
<p>Il kit HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics è stato progettato come un dosaggio anticorpale supplementare per la caratterizzazione dei campioni trovati ripetutamente reattivi tramite metodi di screening anticorpale per HTLV-I/II. I profili sierologici disponibili definiti dal HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics includono: Sieropositivo per HTLV, Sieropositivo per HTLV-I, Sieropositivo per HTLV-II, Sieronegativo o Indeterminato.</p>

DESCRIZIONE DEI SIMBOLI UTILIZZATI	
<p>Utilizzare entro <i>Sinonimi:</i> Data di scadenza</p>	IVD Dispositivo medico diagnostico in vitro
Codice partita <i>Sinonimi:</i> Numero di lotto Numero di partita	REF Numero di catalogo
Limitazione di temperatura	ATTENZIONE Attenzione.
Produttore	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
Contiene il necessario per l'esecuzione di <= > analisi	VEDERE LE ISTRUZIONI Vedere le Istruzioni per l'uso
NON RIUTILIZZARE	
SOMMARIO	

PRINCIPI CHIMICI E BIOLOGICI DELLA PROCEDURA
<p>Alle strisce di nitrocellulosa vengono legate proteine virali dell'HTLV-I derivanti da particelle virali native inattivate disgregate e proteine progettate geneticamente. Le singole strisce di nitrocellulosa vengono incubate con campioni e controlli diluiti del siero o del plasma. Se presenti nel campione, gli anticorpi specifici anti HTLV-III si legheranno alle proteine di HTLV-III presenti nelle strisce. Le strisce sono sottoposte a lavaggio per rimuovere il materiale non legato, e gli anticorpi legati in modo specifico alle proteine dell'HTLV possono essere visualizzati utilizzando una serie di reazioni che utilizzano immunoglobuline di capra anti-IgG umane coniugate con fosfatasi alcalina e con il substrato BCIP/NBT. Grazie al suo elevato grado di sensibilità, questo metodo consente la determinazione di quantità minime di anticorpi anti HTLV presenti nel siero o nel plasma.</p>

PROCEDURA DEL TEST
<p>Nota: a) Aspirare tutte le sostanze chimiche e i reagenti residui in un contenitore con ipoclorito di sodio.</p> <p>b) Ogni incubazione deve essere effettuata sulla piattaforma oscillante.</p>
ATTENZIONE:
<p>Alcuni campioni provocano la formazione di macchie scure sulla striscia quando vengono aggiunti. Per evitare questo inconveniente, procedere come segue:</p>

- Aggiungere 2 ml di SOLUZIONE DI CONIUGATO a ogni pozzetto.
- Coprire il vassoio e incubarlo per 1 ora a temperatura ambiente (25 ± 3 °C) sull'agitatore oscillante.
- Aspirare il CONIUGATO dai pozzetti. Eseguire un lavaggio come indicato al punto 8.
- Aggiungere 2 ml di SOLUZIONE DI SUBSTRATO a ogni pozzetto.
- Coprire il vassoio e incubarlo per 15 minuti sull'agitatore oscillante.
- Aspirare il SUBSTRATO e sciacquare almeno tre volte le strisce con acqua per reagenti per arrestare la reazione.
- Prendere delicatamente le strisce con le pinze e appoggiarle su fazzoletti di carta. Coprire con altri fazzoletti e asciugare. In alternativa, lasciare asciugare le strisce nei pozzetti del vassoio.
- Sistemare le strisce su carta da lavoro (carta bianca non assorbente). Non applicare nastro adesivo sulle bande che si sono formate. Osservare le bande (vedere Interpretazione dei risultati) e classificare i risultati. Conservare le strisce al buio.

- Prendere con cautela il numero di STRISCE occorrenti dalla confezione usando le pinze e sistemarle, con il lato numerato rivolto verso l'alto, una per pozzetto. Compende strisce per controlli Reattivo forte I, Reattivo forte II e non reattivo.
- Aggiungere 2 ml di SOLUZIONE DI LAVAGGIO DILUITA a ciascun pozzetto.
- Coprire il vassoio con il relativo coperchio e incubare per 1 ora a temperatura ambiente (25 ± 3 °C) su un agitatore oscillante (alla velocità di 12 - 16 oscillazioni al minuto). Eliminare la soluzione tampone mediante aspirazione.
- Aggiungere 2 ml di SOLUZIONE DI BLOTTING a ciascun pozzetto.
- Aggiungere 20 µl di siero del paziente o un contenitore graduato in polipropilene.
- Coprire il vassoio con il relativo coperchio e incubare per 1 ora a temperatura ambiente (25 ± 3 °C) sull'agitatore oscillante.
- Scoprire con cautela il vassoio per evitare la fuoriuscita del materiale o il rimescolamento dei campioni. Inclinare il vassoio per aspirare la miscela dai pozzetti. Tra un campione e l'altro, cambiare il beccuccio dell'aspiratore per evitare una contaminazione incrociata.
- Lavare ogni striscia per 3 volte con 2 ml di TAMPONE DI LAVAGGIO DILUITO lasciandolo penetrare per 5 minuti sull'agitatore oscillante tra ogni lavaggio.

- Evitare di esporre i reagenti o di eseguire i test in un ambiente contenente un grado elevato di vapori di disinfettanti chimici (es. vapori di ipoclorito) durante le fasi di conservazione e incubazione. Il contatto inibisce la reazione cromatica. Non esporre i reagenti ad eccessiva luminosità.
- L'analisi deve essere effettuata preferibilmente a temperatura ambiente (25± 3 °C).
- Sistemare le strisce con il lato numerato rivolto verso l'alto.
- Per il dosaggio Western Blot è necessario utilizzare un agitatore a piattaforma oscillante anziché un agitatore rotante. In caso contrario, le prestazioni del kit potrebbero essere pregiudicate. Si raccomanda di azionare l'agitatore ad una velocità di 12 - 16 cicli al minuto, con un angolo di inclinazione di 5 - 10 gradi.
- In caso di impiego di strumentazione automatica, accertarsi che questa sia validata prima dell'uso.
- Accertarsi che i campioni vengano aggiunti dalla striscia. Il vassoio può essere inclinato e il campione aggiunto quando il tampone viene raccolto all'estremità inferiore. In questo modo si impedisce la formazione di macchie scure dovute all'aggiunta del campione sulla striscia.
- Evitare l'impiego di congelatori a sbrinatorio automatico per la conservazione di reagenti e campioni.

CONSERVAZIONE
<ol style="list-style-type: none">Conservare il kit HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics e i relativi componenti a 2-8 °C quando non sono utilizzati. Se conservati alla temperatura di 2 °C - 8 °C, tutti i reagenti e le strisce per test mantengono la stabilità fino alla data di scadenza riportata sul kit. Non congelare i reagenti.
A. Strisce
• Evitare inutili esposizioni delle strisce alla luce.
B. Reagenti
• Conservare i reagenti nelle provette o nei flaconi originali con i cappucci correttamente serrati.
• Dispensare tutti i reagenti a freddo e riportarli a una temperatura di 2 °C - 8 °C non appena possibile.
• La conservazione del substrato a 2 °C - 8 °C può provocare la formazione di precipitato. Questo, tuttavia, non avrà alcuna influenza sulle prestazioni del kit.
ATTENZIONE: Evitare l'esposizione non strettamente necessaria del substrato alla luce.

RACCOLTA, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI
<p>È possibile utilizzare campioni di siero o di plasma raccolti in EDTA, eparina o citrato di sodio. Prima della conservazione, accertarsi che i coaguli o le cellule ematiche siano state separate prima della centrifugazione.</p>

I campioni devono essere conservati a 2 - 8 °C se il test deve essere eseguito entro 7 giorni dalla raccolta, oppure congelati a -20 °C o temperature inferiori se il test è previsto per una data successiva. Utilizzare preferibilmente campioni trasparenti e non emolizzati. I campioni lipemici litterici o contaminati (con particelle) devono essere filtrati (0,45µm) o centrifugati prima dell'analisi.

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

COMPONENTI DEL KIT

Descrizione dei componenti	Quantità fornita
ANTIGEN STRIPS	Disponibile 18 o 36 strisce
STRISCE DI NITROCELLULOSA	Contenuti lisato virale HTLV-I, antigeni ricombinanti e banda per il controllo dell'aggiunta del siero (anti-IgG umane). Conservare all'asciutto e al riparo dalla luce.
CONTROLLO NON REATTIVO	1 provetta (80 µl)
CONTROLLO REATTIVO FORTE I	1 provetta (80 µl)
CONTROLLO REATTIVO FORTE II	1 provetta (80 µl)
TAMPONE DI LAVAGGIO CONCENTRATO (20x)	Tris con Tween-20 e contiene thimerosal come conservante.
CONIUGATE	1 provetta (120 µl)

SOLUZIONE TAMPONE LIOFILIZZATA	1 o 2 flaconi (ciascuno da ricostituire fino a 100 ml)
TAMPONE DI LAVAGGIO CONCENTRATO (20x)	1 flicone (70 ml)
CONIUGATO	1 provetta (120 µl)

PROCEDURA DEL TEST
<p>Nota: a) Aspirare tutte le sostanze chimiche e i reagenti residui in un contenitore con ipoclorito di sodio.</p> <p>b) Ogni incubazione deve essere effettuata sulla piattaforma oscillante.</p>
ATTENZIONE:
<p>Alcuni campioni provocano la formazione di macchie scure sulla striscia quando vengono aggiunti. Per evitare questo inconveniente, procedere come segue:</p>

SOMMARIO PROTOCOLLI DI ANALISI		
Reagenti	Quantità	Durata
Striscia nitrocellulosa	1	-
Tampone di lavaggio	2 ml	5 min.
Tampone di blotting	2 ml	-
Campione	20 µl	60 min.
Tampone di lavaggio	3 x 2 ml	3 x 5 min.
Coniugato	2 ml	60 min.
Tampone di lavaggio	3 x 2 ml	3 x 5 min.
Substrato (pronto per l'uso)	2 ml	15 min.
Acqua distillata	3 x 2 ml	-

QUANTITÀ NECESSARIA DI REAGENTI PER NUMERO DI STRISCE							
Reagenti	NUMERO DI STRISCE DA UTILIZZARE						
1X Tampone di lavaggio (ml)	3	6	9	15	20	27	36
1X Tampone di blotting (ml)	60	100	140	240	300	400	520
Coniugato (µl)	11	17	23	35	45	59	77
Substrato (ml)	11	17	23	35	45	59	77
Polvere per blot (g)	1	2	3	4	5	6	8

DESCRIZIONE DEI SIMBOLI UTILIZZATI	
<p>Utilizzare entro <i>Sinonimi:</i> Data di scadenza</p>	IVD Dispositivo medico diagnostico in vitro
Codice partita <i>Sinonimi:</i> Numero di lotto Numero di partita	REF Numero di catalogo
Limitazione di temperatura	ATTENZIONE Attenzione.
Produttore	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
Contiene il necessario per l'esecuzione di <= > analisi	VEDERE LE ISTRUZIONI Vedere le Istruzioni per l'uso
NON RIUTILIZZARE	
SOMMARIO	

PRINCIPI CHIMICI E BIOLOGICI DELLA PROCEDURA
<p>Alle strisce di nitrocellulosa vengono legate proteine virali dell'HTLV-I derivanti da particelle virali native inattivate disgregate e proteine progettate geneticamente. Le singole strisce di nitrocellulosa vengono incubate con campioni e controlli diluiti del siero o del plasma. Se presenti nel campione, gli anticorpi specifici anti HTLV-III si legheranno alle proteine di HTLV-III presenti nelle strisce. Le strisce sono sottoposte a lavaggio per rimuovere il materiale non legato, e gli anticorpi legati in modo specifico alle proteine dell'HTLV possono essere visualizzati utilizzando una serie di reazioni che utilizzano immunoglobuline di capra anti-IgG umane coniugate con fosfatasi alcalina e con il substrato BCIP/NBT. Grazie al suo elevato grado di sensibilità, questo metodo consente la determinazione di quantità minime di anticorpi anti HTLV presenti nel siero o nel plasma.</p>

PROCEDURA DEL TEST
<p>Nota: a) Aspirare tutte le sostanze chimiche e i reagenti residui in un contenitore con ipoclorito di sodio.</p> <p>b) Ogni incubazione deve essere effettuata sulla piattaforma oscillante.</p>
ATTENZIONE:
<p>Alcuni campioni provocano la formazione di macchie scure sulla striscia quando vengono aggiunti. Per evitare questo inconveniente, procedere come segue:</p>

SOLUZIONE TAMPONE LIOFILIZZATA	1 o 2 flaconi (ciascuno da ricostituire fino a 100 ml)
TAMPONE DI LAVAGGIO CONCENTRATO (20x)	1 flicone (70 ml)
CONIUGATO	1 provetta (120 µl)

PROCEDURA DEL TEST
<p>Nota: a) Aspirare tutte le sostanze chimiche e i reagenti residui in un contenitore con ipoclorito di sodio.</p> <p>b) Ogni incubazione deve essere effettuata sulla piattaforma oscillante.</p>
ATTENZIONE:
<p>Alcuni campioni provocano la formazione di macchie scure sulla striscia quando vengono aggiunti. Per evitare questo inconveniente, procedere come segue:</p>

SOMMARIO PROTOCOLLI DI ANALISI		
Reagenti	Quantità	Durata
Striscia nitrocellulosa	1	-
Tampone di lavaggio	2 ml	5 min.
Tampone di blotting	2 ml	-
Campione	20 µl	60 min.
Tampone di lavaggio	3 x 2 ml	3 x 5 min.
Coniugato	2 ml	60 min.
Tampone di lavaggio	3 x 2 ml	3 x 5 min.
Substrato (pronto per l'uso)	2 ml	15 min.
Acqua distillata	3 x 2 ml	-

QUANTITÀ NECESSARIA DI REAGENTI PER NUMERO DI STRISCE							
Reagenti	NUMERO DI STRISCE DA UTILIZZARE						
1X Tampone di lavaggio (ml)	3	6	9	15	20	27	36
1X Tampone di blotting (ml)	60	100	140	240	300	400	520
Coniugato (µl)	11	17	23	35	45	59	77
Substrato (ml)	11	17	23	35	45	59	77
Polvere per blot (g)	1	2	3	4	5	6	8

DESCRIZIONE DEI SIMBOLI UTILIZZATI	
<p>Utilizzare entro <i>Sinonimi:</i> Data di scadenza</p>	IVD Dispositivo medico diagnostico in vitro
Codice partita <i>Sinonimi:</i> Numero di lotto Numero di partita	REF Numero di catalogo
Limitazione di temperatura	ATTENZIONE Attenzione.
Produttore	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
Contiene il necessario per l'esecuzione di <= > analisi	VEDERE LE ISTRUZIONI Vedere le Istruzioni per l'uso
NON RIUTILIZZARE	
SOMMARIO	

DESCRIZIONE DEI SIMBOLI UTILIZZATI	
<p>Utilizzare entro <i>Sinonimi:</i> Data di scadenza</p>	IVD Dispositivo medico diagnostico in vitro
Codice partita <i>Sinonimi:</i> Numero di lotto Numero di partita	REF Numero di catalogo
Limitazione di temperatura	ATTENZIONE Attenzione.
Produttore	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
Contiene il necessario per l'esecuzione di <= > analisi	VEDERE LE ISTRUZIONI Vedere le Istruzioni per l'uso
NON RIUTILIZZARE	
SOMMARIO	

Nota: Il volume dei reagenti fornito è sufficiente per 4 sedute.

** Vaschette di incubazione in dotazione ma imballate separatamente dal kit.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI
<ol style="list-style-type: none">Solo per uso diagnostico <i>in vitro</i>. Solo per uso professionale. Per informazioni sui componenti potenzialmente pericolosi leggere le etichette apposte sui prodotti.

NORME DI SICUREZZA
ATTENZIONE: Questo kit contiene sostanze di origine umana. Nessun metodo di prova è in grado di garantire con assoluta certezza che i prodotti derivati dal sangue umano non trasmettano infezioni.

MANEGGIARE TUTTI I CAMPIONI D'ANALISI, NONCHÉ I CONTROLLI REATTIVI FORTI, REATTIVI DEBOLI E NON REATTIVI, COME AGENTI POTENZIALMENTE INFETTIVI. Si consiglia di maneggiare i componenti e i campioni nel rispetto delle pratiche operative di laboratorio. Lo smaltimento del materiale dovrà essere effettuato in conformità alle procedure di sicurezza stabilite.

Il *controllo reattivo forte I*, il *controllo reattivo forte II* e il *controllo non reattivo* contengono thimerosal e sodio azide; la soluzione tampone concentrata e il tampone di lavaggio concentrato contengono thimerosal; il coniugato contiene sodio azide. Il sodio azide può reagire con il rame o il piombo utilizzati in alcuni impianti idraulici con la conseguente formazione di sali esplosivi. Sebbene le quantità utilizzate in questo kit siano limitate, si raccomanda comunque di smaltire sempre i materiali contenenti azide in abbondante acqua corrente onde evitare l'accumulo di metallo-azide nell'impianto idraulico.

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

Componente:	STRISCE DI NITROCELLULOSA
Simbolo di avvertenza:	Pericolo
Pittogramma:	
Indicazioni di pericolo:	H228 Solido infiammabile.

CONTRULLO QUALITÀ	
<p>Si consiglia di utilizzare i controlli non reattivo e Reattivo forte I e II per ogni test, indipendentemente dal numero di campioni da testare. I risultati di un test possono essere considerati validi solo se soddisfano le seguenti condizioni:</p>	
1. CONTROLLO NON REATTIVO	
Non si dovrebbe osservare alcuna banda virale specifica HTLV-I/II per rgp46-I, rgp46-II o GD21 sulla striscia di controllo non reattivo. Dovrebbe essere visibile la banda per il controllo del siero (IgG contro antigeni umani).	
2. CONTROLLO REATTIVO FORTE I	
Le bande HTLV rilevanti che devono essere presenti sono la p19, la p24, la rgp46-I e la GD21. La banda di controllo (IgG anti-umano) deve essere visibile.	
Nota: anche se raramente, può presentarsi una banda virale gp46. Questa appare come banda diffusa. A motivo della rarità della gp46 e della errata lettura delle bande virali in questo range di peso molecolare, la gp46 virale non viene utilizzata come parte dei criteri interpretativi del test.	
3. CONTROLLO REATTIVO FORTE II	
La banda per il controllo del siero e tutte le bande per i pesi molecolari rilevanti per l'HTLV-I/II devono essere evidenti. Le bande rilevanti per l'HTLV che devono essere presenti sono p24, GD21 e rgp46-II.	

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI
<p>La banda per il controllo del siero serve come controllo per l'aggiunta del siero durante il test. L'assenza di questa banda indica che non sono stati aggiunti alcun siero, coniugato o substrato per il test alle strisce o indica l'assenza di errori procedurali.</p> <p>Trovare e identificare le bande sulle strisce utilizzate con i controlli Reattivi forte. Queste strisce verranno quindi utilizzate per identificare le bande presenti sulle strisce utilizzate con i campioni da testare.</p>

SEQUENZA	INTERPRETAZIONE.
1. Nessuna reattività alle proteine specifiche dell'HTLV	SIERONEGATIVO
2. Reattività a GAG (p19 con o senza p24) e due ENV (GD21 e rgp46-I)	SIEROPOSITIVO ALL'HTLV-I
3. Reattività a GAG (p24 con o senza p19) e due ENV (GD21 e rgp46-II)	SIEROPOSITIVO ALL'HTLV-II
4. Reattività a GAG (p19 e p24) e ENV (GD21) <ul style="list-style-type: none">- <i>SIEROPOSITIVO ALL'HTLV-I</i> indicato se p19 ≥ p24 - <i>SIEROPOSITIVO ALL'HTLV-II</i> indicato se p19 < p24	SIEROPOSITIVO ALL'HTLV*
5. Rilevate bande specifiche per HTLV ma non rispondono ai criteri per la sieropositività a HTLV-I, HTLV-II o HTLV. Tuttavia, è possibile considerare le seguenti sequenze di bande indeterminate come SIERONEGATIVE: <ul style="list-style-type: none">- <i>Sequenze Indeterminate Western Blot HTLV-I GAG (HGIP) Presenza di p19, p26, p28, p32, p36, p53 ma assenza di p24 e di proteine ENV</i>	INDETERMINATO**

Consigli di prudenza:	P210 Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. – Non fumare <p>P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso.</p>
Dichiarazioni supplementari:	La scheda dati di sicurezza EUH210 è disponibile a richiesta
Contiene:	100% nitrocellulosa

Componente:	TAMPONE DI LAVAGGIO CONCENTRATO (20x)
Simbolo di avvertenza:	Avvertenza
Pittogramma:	
Indicazioni di pericolo:	H373 Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta
Consigli di prudenza:	P260 Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. <p>P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.</p>
Dichiarazioni supplementari:	La scheda dati di sicurezza EUH210 è disponibile a richiesta
Contiene:	0,1% thimerosal

- Evitare la contaminazione microbica dei reagenti durante l'apertura delle provette o dei flaconi originali e durante il prelievo dei materiali.
- Non pipettare con la bocca.
- Maneggiare i campioni di analisi, le strisce di nitrocellulosa, i controlli reattivi forti I, i controlli reattivi forti II, e quelli non reattivi come agenti potenzialmente infettivi.
- Indossare indumenti da laboratorio e guanti monouso durante l'esecuzione delle analisi. I guanti devono essere gettati negli appositi contenitori a rischio biologico. Lavare accuratamente le mani al termine dell'operazione.
- Si raccomanda di eseguire il test in uno spazio apposito per procedure con rischio di contaminazione biologica.
- Evitare il contatto dei materiali con cibi e bevande.
- In caso di contatto con gli occhi sciacquare immediatamente con abbondante acqua e richiedere assistenza medica.
- In caso in ingestione o di contatto dei materiali contaminati con ferite aperte o altre lacerazioni cutanee, consultare immediatamente il medico.
- Asciugare immediatamente ogni versamento di materiale potenzialmente infettivo con carta assorbente e tamponare l'area contaminata con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% prima di riprendere il lavoro. In presenza di versamenti contenenti sostanze acide, asciugare l'area

CONTRULLO QUALITÀ	
<p>Si consiglia di utilizzare i controlli non reattivo e Reattivo forte I e II per ogni test, indipendentemente dal numero di campioni da testare. I risultati di un test possono essere considerati validi solo se soddisfano le seguenti condizioni:</p>	
1. CONTROLLO NON REATTIVO	
Non si dovrebbe osservare alcuna banda virale specifica HTLV-I/II per rgp46-I, rgp46-II o GD21 sulla striscia di controllo non reattivo. Dovrebbe essere visibile la banda per il controllo del siero (IgG contro antigeni umani).	
2. CONTROLLO REATTIVO FORTE I	
Le bande HTLV rilevanti che devono essere presenti sono la p19, la p24, la rgp46-I e la GD21. La banda di controllo (IgG anti-umano) deve essere visibile.	
Nota: anche se raramente, può presentarsi una banda virale gp46. Questa appare come banda diffusa. A motivo della rarità della gp46 e della errata lettura delle bande virali in questo range di peso molecolare, la gp46 virale non viene utilizzata come parte dei criteri interpretativi del test.	
3. CONTROLLO REATTIVO FORTE II	
La banda per il controllo del siero e tutte le bande per i pesi molecolari rilevanti per l'HTLV-I/II devono essere evidenti. Le bande rilevanti per l'HTLV che devono essere presenti sono p24, GD21 e rgp46-II.	

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI
<p>La banda per il controllo del siero serve come controllo per l'aggiunta del siero durante il test. L'assenza di questa banda indica che non sono stati aggiunti alcun siero, coniugato o substrato per il test alle strisce o indica l'assenza di errori procedurali.</p> <p>Trovare e identificare le bande sulle strisce utilizzate con i controlli Reattivi forte. Queste strisce verranno quindi utilizzate per identificare le bande presenti sulle strisce utilizzate con i campioni da testare.</p>

SEQUENZA	INTERPRETAZIONE.
1. Nessuna reattività alle proteine specifiche dell'HTLV	SIERONEGATIVO
2. Reattività a GAG (p19 con o senza p24) e due ENV (GD21 e rgp46-I)	SIEROPOSITIVO ALL'HTLV-I
3. Reattività a GAG (p24 con o senza p19) e	

LIMITI DELLA METODICA

Per ottenere prestazioni ottimali dal test occorre seguire rigorosamente le procedure illustrate. Qualsiasi deviazione dalla procedura può provocare risultati erronei.

Un risultato NEGATIVO non esclude la possibilità di esposizione o infezione da virus HTLV-I o HTLV-II. I blot INDETERMINATI non devono essere utilizzati come base per la diagnosi di infezione da HTLV-I/II.

È stato anche riportato che le sieroreattività sia di p19 che di p24 siano state osservate in popolazioni non infette e a basso rischio, anche se la reattività indeterminata per p24 è relativamente rara.

La sensibilità del rpg46-I è stata riportata essere del 95% in Francia, del 100% nei campioni confermati tramite PCR in Giamaica, e del 98% nei donatori di sangue sieropositivi per l'HTLV-I. La sensibilità del rpg46-II è stata dimostrata essere superiore al 98% nei campioni confermati tramite PCR negli Stati Uniti.

La sensibilità media di ciascuna tipizzazione, rpg46-I e rpg46-II, è stata stimata essere superiore al 97%. La piccola percentuale di campioni HTLV-I e HTLV-II che non sono reattivi con rpg46-I o rpg46-II, sono reattivi almeno con GD21 e con una o più bande GAG, p19, o p24, seguendo così i criteri per la sieropositività all'HTLV (Sequenza 4) o Indeterminata (Sequenza 5). Non sono state riportate interpretazioni con falsi negativi.

Può essere utile effettuare test supplementari come la PCR (HTLV-I e HTLV-II) per la differenziazione dei campioni sieropositivi per l'HTLV che non possono essere identificati come HTLV-I o HTLV-II tramite l'HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics (per es. Sequenza 4).

CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI PRESTAZIONE

Le prestazioni di HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics per la rilevazione degli anticorpi anti HTLV-I e HTLV-II sono state valutate utilizzando campioni sieropositivi e sieronegativi a HTLV-I/II e sono state confrontate con due campioni immunoenzimatici lineari che inglobavano gli antigeni HTLV I e HTLV II (proteine e peptidi ricombinanti).

Sensibilità

I campioni risultati positivi agli anticorpi HTLV I o/e HTLV II mediante test commerciali ELISA sono stati impiegati per determinare la sensibilità di HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics.

A. Confronto con campione immunoenzimatico lineare 1
I risultati del blot che mettono a confronto HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics e il campione immunoenzimatico lineare 1 (LI 1) per campioni positivi acquistati da Boston Biomedica, Inc., USA (BBi) e ProMedDx sono riportati di seguito:

Metodo	Campione immunoenzimatico lineare 1		Totale	
	NEG / IND	POS		
HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics	NEG / IND	3*	0	3
	POS	0	102	102
	Totale	3	102	105

* HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics ha fornito 2 risultati indeterminati e 1 risultato negativo, rilevato tale anche dal campione immunoenzimatico lineare 1. Il campione immunoenzimatico lineare 1 ha fornito 3 risultati negativi.

I due blot hanno fornito le seguenti discordanze per i campioni positivi 102 HTLV:

Metodo	Interpretazione				Totale
	HTLV I	HTLV II	HTLV I e HTLV II**	Non-trascrivibile***	
HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics	45	53	4	0	102
LI 1	48	51	0	3	102

** Sono comparsi entrambi i marker specifici HTLV I e HTLV II indicando una co-infezione.

*** Incapacità nel trascrivere i ceppi HTLV a causa dell'assenza di marker specifici.

Sia HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics e LI 1 hanno riportato risultati analoghi. La ridotta discordanza di dati è dovuta agli antigeni immobilizzati sui blot e alle diverse metodiche impiegate.

HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics ha mostrato una sensibilità del 97,1% equivalente a quella rilevata con il campione immunoenzimatico 1.

B. Confronto con campione immunoenzimatico 2
L'Associazione francese per le trasfusioni di sangue Anti-HTLV-I e il Performance Panel II hanno studiato il panel SFTS-94 costituito da 26 campioni HTLV-I e 6 HTLV-II. I risultati di HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics su questo panel sono stati confrontati con il campione immunoenzimatico 2 (LI 2) come di seguito riportato:

Metodo	Interpretazione				Totale
	HTLV I	HTLV II	Non-trascrivibile	Falso NEG	
HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics	26	6	0	0	32
LI 2	21	6	4	1	32

HTLV BLOT 2.4 di MP Diagnostics identifica correttamente i campioni positivi HTLV, presentando una sensibilità >99,9% in questo panel. Utilizzando lo stesso panel, il kit comparativo (LI 2) ha evidenziato una sensibilità del 96,9%.

Specificità

Sono stati analizzati in totale 200 donatori di sangue mostrando una specificità pari al 92,5%. Quindici campioni sono risultati indeterminati e non sono stati evidenziati falsi positivi.

Se 150 campioni clinici, 50 in gravidanza, 50 con potenziali interferenze (10 ciascuno di itterico, emolitico, trigliceride, lipemico, totali campioni proteici) e 73 campioni potenzialmente cross-reattivi (TB, *Helicobacter pylori*, HEV, Dengue, HBV, HCV, HIV-1, HIV-2) sono inclusi, la specificità totale era di 89,2% (461/517). Cinquantasei campioni sono risultati indeterminati e non si sono evidenziati falsi positivi. Sei campioni erano realmente positivi, ulteriormente confermati da un altro test.

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 Manuale di istruzioni del 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 causati dal prodotto nell'uso o nell'applicazione sopra indicati.

PROBLEMI TECNICI / RECLAMI

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

1. Prendere nota del numero di lotto e della data di scadenza del kit.
2. Conservare i kit e risultati ottenuti.
3. Contattare il più vicino centro MP Biomedicals o il proprio distributore locale.

BIBLIOGRAFIA

1. Towbin H., Staehlin T. and Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1976; 76: 4350-4354.
2. Poiesz BJ, Russetti FW, Gazdar AF, Bonn PA, Minna JD, And Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1980; 77(12): 7415-7419.
3. Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Blayney D, Golde and Gallo RC. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. Science 1982; 218: 571-573.
4. William AE., Fang CT, Slamon DJ. et al. Seroprevalence and epidemiological correlates of HTLV-I infection in U.S. blood donors. Science 1988; 240: 643-646.
5. Lee H., Swanson P., Shorty VS., Zack JA., Roseblatt JD. and Chen ISY. High rate of HTLV-II infection in seropositive IV drug abusers in New Orleans. Science 1989; 244: 471-475.
6. Lipka JJ., Bui K., Reyes GR, Moeckli R., Wiktor SZ., Blattner WA., Murphy EL., Hanson CV., Shaw GM., Shinsky JJ. and Fong SKH. Determination of a unique immunodominant epitope of HTLV-I. Infect Dis 1990; 162: 353-357
7. Wiktor SZ., Alexandra SS., Shaw GM. et al. Distinguishing between HTLV-I and HTLV-II by Western Blot. Lancet 1990; 335: 1533.
8. Samuel KP., Lautenberger JA., Jorcyk CL., Josephs S., Wong Staal F. and Papas TS. Diagnostic potential for human malignancies of bacterially produced HTLV-I envelope protein. Science 1984; 226: 1094-1097.
9. Hadlock KG., Goh CJ., Bradshaw PA., Perkins S., Lo J., Habbaz RK., Kaplan J. and Fong SKH. Delineation of an immunodominant and highly HTLV specific epitope within the HTLV-I transmembrane glycoprotein. Blood 1995; 68(4): 1392-1399.
10. Varma M., Rudolph D., Knuchel M., Switzer W., Hadlock KG., Velligan M., Chan L., Fong SKH., Lal RB. Enhanced specificity of truncated transmembrane protein for serologic confirmation of HTLV-I and HTLV-II infection by Western Blot assay containing recombinant envelope glycoproteins. J. Clin. Micro. 1995; 33(12): 3239-3244.
11. Lillehoj EP., Alexander SS., Dubrule CJ., Wiktor S., Adams R., Thi, A. Manns CC., and Blattner WA. Development and evaluation of a human T-Cell leukemia virus type I serologic confirmatory assay incorporating a recombinant envelope polypeptide. J. Clin. Microbiol. 1990; 28: 2653-2658.
12. Lal RB., Brodine SK., Coligan JE., and Roberts CR. Differential antibody responsiveness to p19 gag results in serological discrimination between human T-lymphotropic virus type I and type II. J. Med. Virol. 1991; 1: 232-236.
13. Hjelle B., Cyrus S., Swenson S., and Mills R. Serologic distinction between human T-lymphotropic virus (HTLV) type I and HTLV type II. Transfusion 1991; 31: 731-736.
14. Madeleine, MM., Wiktor SZ., Goedert JL., Manns A., Levine PH., Biggar RJ., Blattner WA. HTLV-I and HTLV-II worldwide distribution: reanalysis of 4.832 immunoblot results. Inte. J. Cancer 1993.; 54(2): 255-260.
15. World Health Organization's Global Programme on AIDS. WHO Global Programme on AIDS Information Update. Virus Information Exchange Newsletter 1990; 7(2): 54-55.
16. Lal, RB., Rudolph DL., Coligan JE., Brodine SK., and Roberts CR. Failure to detect evidence of human T-lymphotropic virus (HTLV) type I and type II in blood donors with isolated gag antibodies to HTLV-I/II. Blood 1992; 80: 544-550.
17. Khabbaz, RF., Heneine W., Grindon A., Hartley TM., Shulman G., and Kaplan J. Indeterminate HTLV serologic results in U.S. blood donors: Are they due o HTLV-I or HTLV-II? J. Acquir. Immune Defic. Syndr. 1992; 5: 400-404.
18. Lipka, JJ., Young KK., Kwok SY., Reyes GR., Shinsky JJ, and Fong SK. Significance of human T-lymphotropic virus type I indeterminate serological findings among healthy individuals. Vox Sang. 1991; 61: 171-176.
19. Zrein M., Louwagie J., Boeykens H., Govers L., Hendicx G., Bosman F., Sablon E., Demarquilly C., Boniface M., and Saman E. Assessment of a new immunoassay for serological confirmation and discrimination of human T-cell lymphotropic virus infections. Clin. Diag. Lab. Immunol. 1998; 5: 45-49.
20. Witt DJ., Kuramoto K., Kemper M., and Holland P. Utility of prospective study of donors deferred as HTLV indeterminate. Vox Sang. 2000; 78:130-131.

21. Hayes C.G., Burans JP., and Oberst RB. Antibodies to Human T Lymphotropic virus Type I in a population from the Philippines: Evidence for cross-reactivity with *Plasmodium falciparum*. The J. Infect. Dis. 1990; 163: 257-262.

22. Gallo D., Diggs JL., and Hanson CV. Evaluation of two commercial Human T-Cell Lymphotropic Virus Western blot (Immunoblot) kits with problem specimens. J. Clin. Microbiol. 1994; 32: 2046-2049.

23. Garin B., Gosselin S., de The G., and Gessain A. HTLV-I/II infection in a high viral endemic area of Zaire, Central Africa: Comparative evaluation of serology, PCR, and significance of indeterminate Western blot pattern. J. Med. Virol. 1994; 44: 104-109.

24. Fujiyama C., Fujiyoshi T., Matsumoto D., Yashiki S., Tamashiro H., and Sonoda S. Re-evaluation of anti-HTLV-I Western blot assay using HTLV-I and HTLV-II serum panels. Clin. & Diag. Virol. 1995; 4: 149-161.

25. Rouet F., Meertens L., Courouble G., Herrmann-Storck C., Pabingui R., Chancerel B., Abid A., Strobel M., Mauliere P., and Gessain A. Serological, epidemiological, and molecular differences between human T-cell lymphotropic virus type I -seropositive healthy carriers and persons with HTLV-I gag indeterminate Western blot patterns from the Caribbean. J. Clin. Microbiol. 2001; 39: 1247-1253

26. Cesaire R., Bera O., Maier H., Lezin A., Martial J., Ouka M., Kerob-Bauchet B., Ould Amar AK., and Vernant JC. Seroindeterminate patterns and seroconversions to human T-lymphotropic virus type I positivity in blood donors from Martinique, French West Indies. Transfusion 1999; 39: 1145-1149.

27. Soldan SS., Graf MD., Waziri A., Flerlage AN., Robinson SM., Kawaninshi T, Leist TP., Lehky TJ., Levin MC., and Jacobson S. HTLV-I/II seroindeterminate western blot reactivity in a cohort of patients with neurological disease. J. Infect. Dis. 1999; 180: 685-694.



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



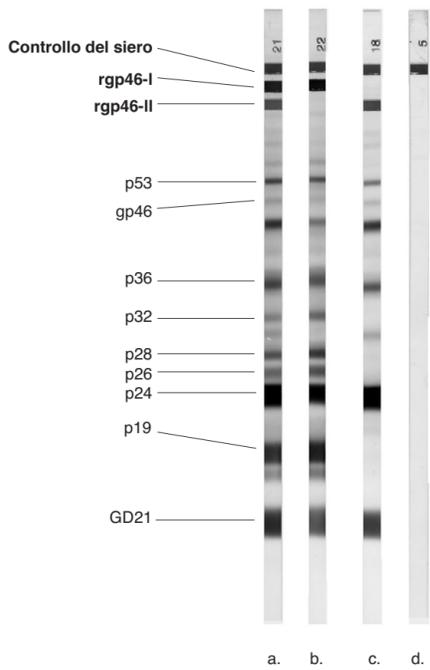
MP Biomedicals Germany GmbH
Thüringer Straße 15
37269 Eschwege
Germania
N. tel. : +49 5651 921 204
N. fax : +49 5651 921 181
Email : diagnostics@mpbio.com

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

* Brevetto USA : 5.066.579 ; 5.614.366 ; 5.763.572 ; 5.814.441 ; 5.871.933 ; 5.643.714
* Brevetto australiano: 613350 ; 667189 ; 690540
* Brevetto canadese: 1337799
* Brevetto europeo: 0395634
* Brevetto giapponese: 2559482

FIGURA 2



Sono visibili le seguenti bande virali specifiche:

- a. Siero con co-infezione HTLV-I/II.
- b. Controllo reattivo forte I. (Reattivo solo a HTLV-I)
- c. Controllo reattivo forte II. (Reattivo solo a HTLV-II)
- d. Controllo non reattivo.