



**INNOGENETICS®**  
BIOTECHNOLOGY FOR HEALTHCARE

KEY-CODE: **INX80770**  
80540 INNO-LIA™ HIV I/II Score  
B30094 v3  
2010-06-08  
p 1/13

Deutsch

## INNO-LIA™ HIV I/II Score

IVD

Hersteller:

INNOGENETICS N.V.  
Technologiepark 6  
9052 Gent  
Belgium  
☎+32-9 329 13 29  
BTW BE 0427.550.660  
RPR Gent



“Bitte beachten Sie die markierten Änderungen”

Vertrieb durch:

INNOGENETICS GmbH  
Hans-Böckler-Allee 20  
30173 Hannover  
Germany  
☎+49-511-85 73 931

INNOGENETICS s.a.r.l.  
Les Conquérants, Bât. Le Kilimandjaro  
8/10, avenue des Tropiques  
91940 Les Ulis  
France  
☎+33-1 69 07 48 34

INNOGENETICS S.r.l.  
Via del Mare 36  
00040 Pomezia (Roma)  
Italy  
☎+39-06 911 80 375

INNOGENETICS Diagnóstica Iberia, S.L.U.  
Calle Tarragona 161, Planta 14  
08014 Barcelona  
Spain  
☎+34-93 270 53 00

INNOGENETICS N.V.  
Technologiepark 6  
9052 Gent  
Belgium  
☎+32-9 329 13 29



## TABLE OF CONTENTS

Verwendete Symbole .....	3
Beabsichtigter Verwendungszweck .....	4
Funktionsweise des Tests .....	4
Reagenzien .....	4
Beschreibung, Vorbereitung, Lagerung und Haltbarkeit .....	4
Zusätzlich benötigte Materialien .....	5
Sicherheitshinweise und Entsorgung .....	5
Herstellung der Proben .....	6
Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen .....	6
Waschen .....	7
Inkubation .....	8
Automatischer Arbeitsablauf: <i>Auto-LIA</i> ™ .....	8
Ergebnisse .....	9
Ablesen der Ergebnisse .....	9
Validierung .....	10
Interpretation der Ergebnisse .....	10
Interpretationssoftware: LiRAS™ für Infektionskrankheiten .....	12
Einschränkungen des Verfahrens .....	12
Leistungsfähigkeit des Tests .....	12
Sensitivität .....	12
Spezifität .....	12
Reproduzierbarkeit .....	13
Handelszeichen .....	13



## Verwendete Symbole



Hersteller



*In-Vitro*-Diagnostikum



Chargenbezeichnung



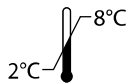
Bestellnummer



Verwendbar bis



Gebrauchsanweisung beachten



Temperaturbegrenzung



Biogefährdung



Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen



Konjugat



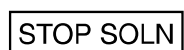
Negativkontrolle



Positivkontrolle



Probenverdünner



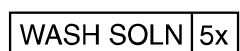
Stopplösung



Teststreifen



BCIP/NBT-Substrat



5x konzentrierte Waschlösung



## Beabsichtigter Verwendungszweck

INNO-LIA™ HIV I/II Score ist ein Line-Immunoassay (LIA®) zur Bestätigung der Präsenz von Antikörpern gegen das humane Immundefizienzvirus Typ 1 (HIV-1), einschließlich Gruppe O und Typ 2 (HIV-2) in humanem Serum oder Plasma. Zusätzlich differenziert INNO-LIA™ HIV I/II Score zwischen Infektionen mit HIV-1 und HIV-2. Der Test dient als Bestätigungstest für Proben, die mit einem HIV-Screeningtest als positiv befundet wurden.

## Funktionsweise des Tests

Rekombinante Proteine und synthetische Peptide von HIV-1 und HIV-2 und ein synthetisches Peptid von HIV-1, Gruppe O sind als diskrete Banden auf einen Nylonstreifen mit Kunststoffverstärkung aufgetragen.

Fünf HIV-1-Antigene sind appliziert: sgp120 und gp41, die spezifisch Antikörper gegen HIV-1 nachweisen sowie p31, p24 und p17, die auch mit Antikörpern gegen HIV-2 kreuzreagieren können. Die Bande HIV-1 sgp120 enthält auch HIV-1-Peptide, Gruppe O. Die Antigene gp36 und sgp105 dienen zum Nachweis von Antikörpern gegen HIV-2.

Zusätzlich zu den HIV-Antigenen befinden sich auf jedem Streifen vier weitere Banden: eine Anti-Streptavidin-Bande, eine ± Cutoff-Bande (humanes IgG), eine Bande mit 1+-Positivkontrolle (humanes IgG) und eine Bande mit starker 3+-Positivkontrolle, die auch als Kontrollbande für die Zugabe von Probe fungiert (anti-humanes Ig). Der INNO-LIA™ HIV I/II Score basiert auf dem Prinzip des Enzymimmunoassays (EIA). Die zu untersuchende Probe wird zusammen mit dem mit Antigenen beschichteten Teststreifen in einer Wanne inkubiert. Wenn sich in der Probe HIV-Antikörper befinden, binden diese an die einzelnen HIV-Antigen-Banden auf dem Streifen. Danach wird ein Ziege-anti-Human IgG zugegeben, an das alkalische Phosphatase gekoppelt ist. Dieses Molekül bindet an den HIV Antigen-Antikörper-Komplex, der sich gegebenenfalls zuvor in der Probe gebildet hat. Bei der folgenden Inkubation mit dem Enzymsubstrat BCIP/NBT entsteht eine dunkle Färbung, deren Intensität der Antikörpermenge in der Probe proportional ist. Die Farbentwicklung wird durch Zugabe von Schwefelsäure gestoppt.

Wenn die Probe keine HIV Antikörper enthält, bildet sich kein entsprechender Antigen-Antikörper-Komplex, an den der markierte anti-Human-Antikörper binden könnte. Daher entsteht bei negativen Proben nur eine geringe Hintergrundfärbung.

## Reagenzien

### Beschreibung, Vorbereitung, Lagerung und Haltbarkeit

- Bei einer Lagerung zwischen 2 - 8 °C sind alle Testreagenzien, ob nun geöffnet oder ungeöffnet, bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.  
Die Reagenzien dürfen nicht eingefroren oder nach dem angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.
- Alle Reagenzien und das Röhrchen mit den Teststreifen müssen auf Raumtemperatur (18 - 25°C) gebracht werden, das heißt, sie müssen ca. 30 Min. vor Gebrauch aus dem Kühlschrank entnommen werden und anschließend sofort wieder gekühlt (2 - 8°C) werden.
- Jede Veränderung des Aussehens von Kitbestandteilen kann bedeuten, dass die entsprechende Komponente sich zersetzt hat und nicht weiter verwendet werden kann.

Jede Packung enthält:

<b>Kitbestandteil</b>	<b>Menge</b>	<b>Ref.</b>	<b>Beschreibung</b>
Teststreifen	20	57330	20 INNO-LIA™ mit HIV-Antigen beschichtete Teststreifen.
Probenverdünner	30 ml	57304	Farbkodierter (grün) Phosphatpuffer mit Natriumchlorid, Detergens, Rinderprotein als Stabilisator und 0,3% Chloracetamid (CAA) als Konservierungsmittel.
Negativkontrolle	0,12 ml	57307	Grundmatrix humanen Ursprungs mit 0,01% Methylisothiazolon (MIT)/ 0,1% Chloracetamid (CAA) als Konservierungsmittel.
Positivkontrolle	0,12 ml	57306	Inaktiviertes Humanserum mit Antikörpern gegen HIV und 0,01% MIT/0,1% Chloracetamid (CAA) als Konservierungsmittel.
Gebrauchsfertiges Konjugat	45 ml	57301	Farbkodiertes (rot), mit alkalischer Phosphatase markiertes Ziege-anti-Human IgG in Trispuffer mit Rinderprotein als Stabilisator, Detergens und 0,01% Methylisothiazolon (MIT)/0,1% Chloracetamid (CAA) als Konservierungsmittel.
Gebrauchsfertiges BCIP/NBT-Substrat	45 ml	57302	5-Brom-4-chlor-3-indolylphosphat/Nitroblau-Tetrazolium in Dimethylformamid, mit 0,01% Methylisothiazolon (MIT)/0,1% Chloracetamid (CAA) als Konservierungsmittel.



Stopplösung	45 ml	57303	0,1 mol/l Schwefelsäure.
Waschlösung	45 ml	57299	Farbkodierter (blau) Trispuffer mit Natriumchlorid, Detergens und 0,02% Bromnitrodioxan als Konservierungsmittel, vor Verwendung 1/5 mit destilliertem Wasser verdünnen. Die verdünnte Waschlösung ist bei 2 - 8°C 2 Wochen stabil.
Inkubationswannen	2	-	Für je 11 Teststreifen.
Klebefolien	5	-	
Protokollbogen	1		Zur Aufbewahrung der entwickelten Teststreifen.
Interpretationsvorlage	1		Zur Identifikation reaktiver Antigenbanden.

### Zusätzlich benötigte Materialien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
- Präzisionspipetten (mit Einmalspitzen) für 10 µl, 20 - 200 µl und 200 - 1000 µl.
- Orbitalschüttler oder Wippschüttler (siehe Hinweise zur Inkubation).
- Vortex-Mischer oder ähnliches.
- Graduierte Messzylinder (10 ml, 25 ml, 50 ml und 100 ml).
- Pinzette zur Manipulation der Teststreifen.
- Laborwecker.
- Optional:
  - Heißluftventilator (Fön) oder Wärmeschrank (37°C).
  - Repetierpipette und Einmalgefäße für Stopplösung, Konjugat, Substrat und Waschlösung.
  - Vakuumpumpensystem mit Abfallflasche, gefüllt mit 5%-igem Natriumhypochlorit.

### Sicherheitshinweise und Entsorgung

- **Bitte beachten Sie die Sicherheitsdatenblätter des Herstellers und die Produktkennzeichnung bezüglich potenziell gefährlicher Substanzen. Die neueste Version dieser Sicherheitsdatenblätter des Herstellers finden Sie unter [www.innogenetics.com](http://www.innogenetics.com).**



**Reizend! (Xi) R43, S23-24-37-60**

**Gilt für 2-Chloracetamid: SAMP DIL, CONJ, SUBS BCIP/NBT, CONTROL - und CONTROL +**

R43	Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich.
S23	Dampf/Aerosol nicht einatmen.
S24	Berührung mit der Haut vermeiden.
S37	Geeignete Schutzhandschuhe tragen.
S60	Dieses Produkt und sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen.

- Die Proben, Positivkontrollen und Negativkontrollen müssen stets als potentiell infektiös behandelt werden.
- Die Positivkontrolle wurde mit negativem Ergebnis auf Antikörper gegen HCV und HbsAg überprüft. Die Negativkontrolle wurde mit negativem Ergebnis auf HbsAg und Antikörper gegen HIV-1, HIV-2 und HCV überprüft. Mit keiner Testmethode kann absolute Sicherheit gewährleistet werden, dass aus menschlichem Blut gewonnene Produkte keine infektiösen Keime enthalten.  
Daher sind alle Blutkomponenten und biologisches Material als potentiell infektiös zu betrachten und entsprechend zu behandeln. Der Kit darf nur von hinreichend ausgebildetem medizinischem Personal angewendet werden. Blut und biologische Materialien müssen in Übereinstimmung mit den entsprechenden Sicherheitsbestimmungen entsorgt werden.
  - Mindestens 15 Minuten bei 121°C autoklavieren.
  - Einwegmaterialien verbrennen.
  - Flüssigabfall mit Natriumhypochlorit mischen, sodass die Endkonzentration von Natriumhypochlorit bei etwa 1% liegt und vor Entsorgung über Nacht stehen lassen. ACHTUNG: Säurehaltigen Flüssigabfall vor Zugabe von Natriumhypochlorit neutralisieren.
- Bei der Arbeit mit potentiell gefährlichen oder infektiösen Materialien geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- Bei Beseitigung der Chemikalien sind die entsprechenden Gesetze bzw. Verordnungen der EG-Mitgliedsländer, der Bundesrepublik Deutschland und der Bundesländer sowie hausinterne Vorschriften zu beachten.
- Die Stopp-Lösung nicht in eine Abfallflasche geben, die Natriumhypochlorit enthält.



## Herstellung der Proben

- Der **INNO-LIA™ HIV I/II Score** Test ist für Proben aus humanem Serum oder Plasma (Citrat, Heparin, EDTA) geeignet.
- Vor der Lagerung müssen die Proben zentrifugiert werden, um unlösliche Bestandteile abzutrennen.
- Proben bei 2 - 8°C lagern. Sollen die Proben länger als eine Woche gelagert werden, müssen sie in Aliquots bei -20°C eingefroren werden.
- Keine hitzeinaktivierten Proben verwenden.
- Wiederholtes (mehr als dreimaliges) Auftauen und Einfrieren der Proben ist zu vermeiden.

## Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Reagenzien mit unterschiedlichen Chargen Nummern nicht vermischen.
- Eingefrorene Reagenzien, z. B. durch zu nahe Lagerung an einem Kühlelement, können zu fehlerhaften Ergebnissen führen!
- **Halten Sie die angegebenen Proben-Volumina und Waschzeiten genau ein.**
- Die Proben dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein.
- Vor der Verwendung müssen Proben und Kontrollen sorgfältig durchmischt werden.
- Streifen nicht auf der Membranseite, sondern nur auf der kunststoffverstärkten Rückseite berühren. Berühren Sie die Streifen nicht mit bloßen Händen; verwenden Sie eine saubere Pinzette.
- Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.
- Die Teststreifen müssen mit der **membranbeschichteten Seite nach oben** in die Inkubationswanne gelegt werden.
- Alle Inkubationsschritte müssen auf einem Orbitalschüttler oder Wippschüttler durchgeführt werden. Einen Wippschüttler nur für Inkubationen über Nacht verwenden. Die Schüttelamplitude ist ein entscheidender Faktor, um maximale Empfindlichkeit und gleichmäßige Färbung zu erzielen. Dazu müssen die Streifen vollständig in die Lösungen eintauchen, und die Flüssigkeit muss sich gleichmäßig über die Streifen hin- und herbewegen.
- Versiegeln Sie die Inkubationswannen bei Probeninkubationen mit einer Klebefolie, um Austrocknen zu vermeiden.
- Unbenutzte und entwickelte Teststreifen sind hitze- und lichtempfindlich und müssen deshalb kühl und im Dunkeln aufbewahrt werden.
- Der Kit darf nur von hinreichend ausgebildetem medizinischem Personal angewendet werden.
- Inkubationswannen und Teststreifen nicht wiederverwenden.
- Teststreifen nicht zerschneiden. Eine richtige Interpretation der Ergebnisse ist nur bei Verwendung vollständiger Teststreifen möglich.

## Manuelles Testverfahren

Machen Sie sich vor Testbeginn mit dem Kapitel Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen vertraut.

### - **Probeninkubation - 16 Stunden**

1. Bereiten Sie eine ausreichende Anzahl an Inkubationswannen vor.  
Sie benötigen zusätzlich zu den Wannern für die Proben zwei weitere Wannern für Positiv- und Negativkontrolle. Beschriften Sie die Wannern, und setzen Sie sie in den Halter ein.
2. Pipettieren Sie in jede Inkubationswanne **1 ml of Probenverdünner**.
3. Pipettieren Sie in jede Inkubationswanne **10 µl Probe** oder **Kontrolle**.
4. Nehmen Sie für jede Probe und jede Kontrolle je einen **Teststreifen** aus dem Behälter. Legen Sie je einen Streifen in eine Inkubationswanne.  
Die Teststreifen müssen mit der membranbeschichteten (markierten) Seite nach oben in die Inkubationswanne gelegt werden. Sie dürfen nur mit einer Pinzette berührt werden. **DIE STREIFEN MÜSSEN VOLLSTÄNDIG IN DIE FLÜSSIGKEIT EINTAUCHEN.**
5. **Decken** Sie die Inkubationswannen mit einem Klebestreifen **ab** (siehe Kapitel Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen). Stellen Sie den Halter mit den Inkubationswannen während der **Inkubation** auf einen Orbitalschüttler oder Wippschüttler (siehe Kapitel Hinweise zur Inkubation) und schütteln Sie **ÜBER NACHT (16 ± 2 Std.)** bei Raumtemperatur (18 - 25°C).  
HINWEIS:
  - Entfernen Sie die Klebefolie vorsichtig, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
6. **Waschen** Sie jeden Teststreifen **dreimal** (je 5 Minuten) mit 1 ml **Waschlösung** (siehe Kapitel Waschanleitung).
7. Pipettieren Sie in jede Inkubationswanne **1 ml Konjugatlösung**.
8. Stellen Sie den Halter mit den Inkubationswannen während der **Konjugat-Inkubation** auf einen Orbitalschüttler oder Wippschüttler und inkubieren Sie 30 Minuten bei Raumtemperatur (18 - 25°C).
9. **Waschen** Sie jeden Teststreifen **dreimal** (je 5 Minuten) mit 1 ml **Waschlösung** (siehe Kapitel Waschanleitung).



10. Pipettieren Sie in jede Inkubationswanne **1 ml Substratlösung**.
11. Stellen Sie den Halter mit den Inkubationswannen während der **Substrat-Inkubation** auf einen Orbitalschüttler oder Wippschüttler und inkubieren Sie 30 Minuten bei Raumtemperatur (18 - 25°C).
12. Saugen Sie die Flüssigkeit aus den Wannen ab. Pipettieren Sie in jede Inkubationswanne **1 ml Stopplösung**.
13. Stellen Sie den Halter mit den Inkubationswannen während der **Inkubation** mit Stopplösung auf einen Orbitalschüttler oder Wippschüttler und inkubieren Sie 10 - 30 Minuten bei Raumtemperatur (18 - 25°C).
14. Saugen Sie die Stopplösung ab.
15. **Nehmen** Sie die Streifen mit einer Pinzette aus der Inkubationswanne heraus, und legen Sie sie mit einer Pinzette mit der Membranseite nach oben auf Fließpapier. Interpretieren Sie die Ergebnisse erst dann, wenn die Streifen vollständig getrocknet sind. Zum schnelleren Trocknen können die Streifen 30 Minuten in einem Trockenschrank bei 37°C oder mit einem Föhn getrocknet werden. Bewahren Sie die entwickelten Streifen im Dunkeln auf.

#### - **Probeninkubation - 3 Stunden**

Es ist auch möglich, die Probeninkubation mit leichten Änderungen in 3 Stunden durchzuführen. Grundsätzlich verläuft die 3-stündige Probeninkubation genauso wie die 16-stündige Probeninkubation.

In folgenden Schritten müssen Änderungen vorgenommen werden:

- 3** - Probenvolumen (auch Kontrollen): 20 µl (statt 10 µl).
- 5** - Inkubationszeit: 3 Stunden (statt 16 Stunden).
- 6** - Waschen: dreimal je 6 Minuten (statt 5 Minuten).
- 9** - Waschen: dreimal je 3 Minuten (statt 5 Minuten).

Insgesamt werden bei beiden Inkubationen folgende Inkubationszeiten und Volumina verwendet (Unterschiede sind fett gedruckt):

	<b>16 Stunden</b>	<b>3 Stunden</b>
	<b>Inkubationszeit</b>	<b>Inkubationszeit</b>
<b>Probenverdünner</b>	1 ml	1 ml
<b>Proben</b>	10 µl	<b>20 µl</b>
<b>Kontrollen</b>	10 µl	<b>20 µl</b>
<b>Inkubationszeit der Teststreifen</b>	16 ± 2 Stunden	<b>3 Stunden</b>
<b>Waschen</b>	1 ml/3 x 5 min	<b>1 ml/3 x 6 min</b>
<b>Konjugat</b>	1 ml/30 min	1 ml/30 min
<b>Waschen</b>	1 ml/3 x 5 min	<b>1 ml/3 x 3 min</b>
<b>Substrat</b>	1 ml/30 min	1 ml/30 min
<b>Stopplösung</b>	1 ml/10 - 30 min	1 ml/10 - 30 min

#### **Waschen**

- Entfernen Sie nach der Inkubation die Klebefolie.
- Saugen Sie die Flüssigkeit in den Wannen mit einer Pipette ab, die möglichst mit einer Vakuumpumpe verbunden ist. In der Abfallflasche sollte sich 5%-ige Natriumhypochloritlösung befinden. Halten Sie die Wanne schräg, sodass alle Flüssigkeit auf eine Seite fließt (und zwar zu der Seite, auf der sich die unbeschichtete Kunststoffverstärkung der Streifen befindet).
- 1 ml verdünnte Waschlösung in jede Wanne füllen und auf einen Orbitalschwenker oder Schüttler stellen. Die Schüttelzeit ist im Testprotokoll angegeben.
- Wiederholen Sie diesen Schritt so oft, wie es in der Testvorschrift angegeben ist.

#### HINWEIS:

- Achten Sie darauf, dass die Streifen zwischen den einzelnen Waschsritten nicht austrocknen.
- Achten Sie darauf, dass Sie beim Absaugen der Flüssigkeit nicht die Oberfläche der Streifen beschädigen.
- Verwenden Sie immer eine saubere Absaugvorrichtung mit desinfizierender Absaugflasche, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Achten Sie darauf, dass der Streifen vollständig in die Waschlösung eintaucht.
- Stellen Sie nötigenfalls die Geschwindigkeit des Schüttlers nach.
- Verhindern Sie, dass Waschlösung über die Ränder der Inkubationswanne spritzt.



## **Inkubation**

- Alle Inkubationsschritte (Proben-, Konjugat-, Substrat- und Stopplösunginkubation) müssen auf einem Schüttler durchgeführt werden. (Für die 16-Stunden-Inkubation muss ein Wippschüttler verwendet werden.)
- Während der Inkubations- und Waschschriffe müssen die Teststreifen vollständig benetzt sein. Die Membranseite muss nach oben weisen.
- Der Schüttler muss eine Hin- und Herbewegung der Streifen in den Testwannen ermöglichen. Dabei muss sich die Flüssigkeit über die Teststreifen hinweg bewegen, ohne aus den Wannen zu spritzen.
- Die Geschwindigkeit des Schüttlers ist entscheidend für eine maximale Sensitivität und eine gleichmäßige Farbreaktion.

### Empfohlene Einstellungen

#### Orbitalschüttler:

- Schwingungsdurchmesser: mindestens 13 mm.
- Empfohlene Geschwindigkeit: 160 Umin-1 bei einem Schwingungsdurchmesser von 13 mm.
- Empfohlene Geschwindigkeit: 90 Umin-1 bei einem Schwingungsdurchmesser von 24 mm.

#### Wippschüttler:

- Die Auslenkung des Wippschüttlers sollte nicht mehr als 80 mm betragen, um ein Verschütten der Flüssigkeit zu vermeiden.
- Empfohlene Schüttelgeschwindigkeit: 34 Umin-1.

## **Automatischer Arbeitsablauf: Auto-LIA™**

Die Testprozedur des INNO-LIA™ Tests ist hervorragend für eine Automatisierung geeignet. Daher wurde ein automatisches Analysengerät, das *Auto-LIA™*, entwickelt, das in der Lage ist, die Arbeitsschritte Aspirieren, Pipettieren und Inkubation vollständig zu automatisieren. Das *Auto-LIA™* kann ohne Überwachung arbeiten. Wenn Sie weitere Informationen über das *Auto-LIA™* wünschen, setzen Sie sich bitte mit der deutschen Niederlassung von Innogenetics® in Verbindung.

Machen Sie sich vor Testbeginn mit dem Kapitel Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen vertraut.

### Ausführliche Auto-LIA™ Verfahren

#### **- Auto-LIA™- 16 Stunden Inkubation**

1. DISP CH1 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
2. INC 1 min, shake speed 4
3. PAUSE
4. INC 960 min, shake speed 4
5. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
6. INC 6 min, shake speed 4
7. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
8. INC 6 min, shake speed 4
9. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
10. INC 6 min, shake speed 4
11. ASP
12. DISP CH4 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
13. INC 30 min, shake speed 4
14. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
15. INC 3 min, shake speed 4
16. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
17. INC 3 min, shake speed 4
18. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
19. INC 3 min, shake speed 4
20. ASP
21. DISP CH6 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
22. INC 30 min; shake speed 4
23. ASP
24. DISP CH5 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
25. INC 20 min, shake speed 4
26. ASP
27. END





- **Auto-LIA™- 3 Stunden Inkubation**

1. DISP CH1 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
2. INC 1 min, shake speed 4
3. PAUSE
4. INC 180 min, shake speed 4
5. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
6. INC 6 min, shake speed 4
7. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
8. INC 6 min, shake speed 4
9. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
10. INC 6 min, shake speed 4
11. ASP
12. DISP CH4 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
13. INC 30 min, shake speed 4
14. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
15. INC 3 min, shake speed 4
16. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
17. INC 3 min, shake speed 4
18. WASH CH2 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
19. INC 3 min, shake speed 4
20. ASP
21. DISP CH6 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
22. INC 30 min; shake speed 4
23. ASP
24. DISP CH5 Stpos: Begin Endpos: Till end 1000 µl
25. INC 20 min, shake speed 4
26. ASP
27. END

CH1 = Probenverdünner

CH2 = Waschlösung

CH4 = Konjugat

CH5 = Stopplösung

CH6 = Substrat

## Ergebnisse

### AbleSEN der Ergebnisse

Die Antigene und Kontrollen sind in folgender Reihenfolge auf den Streifen aufgetragen:

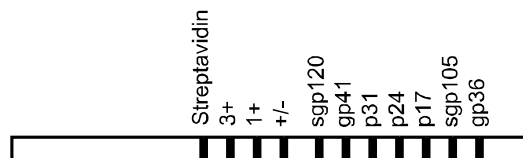


Abbildung 1



Die Farbintensität der Kontrolllinien auf jedem Streifen wird mit den reaktiven Banden verglichen. Dabei wird die Stärke der Banden wie folgt beurteilt:

Reaktionsintensität der Antigenbande (R)		Bewertung
Geringer als $\pm$	$R < \pm$	-
Genau $\pm$	$R = \pm$	$\pm$
Stärker als $\pm$ , aber geringer als bzw. gleich 1+	$\pm < R \leq 1+$	1+
Stärker als 1+, aber geringer als 3+	$1+ < R < 3+$	2+
Genau 3+	$R = 3+$	3+
Stärker als 3+	$R > 3+$	4+

Die Reaktivität muss für alle Teststreifen getrennt bewertet werden. Verwenden Sie bitte die Leseschablone für eine korrekte Interpretation. Die Identifizierung der Linien kann nach Anlegen der 3+-Kontrolllinie des entwickelten Streifens an die 3+-Kontrolllinie der Leseschablone erreicht werden.

## **Validierung**

### *Validierung des Testlaufs:*

- Auf dem Positivkontrollstreifen müssen die Antigenbanden sgp120, gp41, p31, p24 und gp36 mindestens eine Reaktivität von 1+ haben.  
Die Antigenbanden p17 und sgp105 können negativ sein.
- Die Negativkontrollstreifen müssen negativ (kleiner als die  $\pm$  Kontrolle) für alle HIV-Antigenbanden sein.

### *Validierung eines einzelnen Streifens:*

- Die Kontrollen  $\pm$ , 1+ und die stark positive Kontrolle 3+ müssen sichtbar sein.
- Die Intensität der Kontrolle 3+ muss größer als die der Kontrolle 1+ sein, und die Intensität der Kontrolle 1+ muss größer als die der Kontrolle  $\pm$  sein.
- Die Streptavidin-Bande muss negativ sein (geringer als die  $\pm$  Kontrolle).

#### HINWEIS:

- Die Teststreifen müssen vor der Interpretation vollständig trocken sein, um Fehlinterpretationen zu vermeiden, weil nach der Zugabe von Stopplösung schwache Banden auftreten können.
- Legen Sie kein Papier auf die Membranoberfläche, solange sie nicht vollständig getrocknet ist.
- Bei Proben mit IgG-Konzentrationen oberhalb des normalen Bereichs können die Kontrollbanden schwach gefärbt sein.

## **Interpretation der Ergebnisse**

### Bestätigung

Aufgrund umfangreicher Untersuchungen wurde die Interpretation der Ergebnisse wie folgt festgelegt:

Eine Probe wird als NEGATIV für HIV-Antikörper beurteilt:

- wenn alle HIV-Antigenbanden negativ zu bewerten sind ( $< \pm$ )
- wenn nur eine einzige HIV-Antigenbande eine Reaktivität von  $\pm$  aufweist, und die anderen negativ sind.

Eine Probe wird als FRAGLICH beurteilt:

- wenn mindestens zwei HIV-Antigenbanden eine Reaktivität von  $\pm$  aufweisen
- wenn eine HIV-Antigenbande eine Reaktivität von mindestens 1+ aufweist, während die anderen Banden negativ sind oder eine Reaktivität von  $\pm$  aufweisen
- wenn mindestens zwei HIV-Antigenbanden eine Reaktivität von  $\geq 1+$  aufweisen, aber die im Folgenden dargestellten Bedingungen für HIV-Positivität nicht erfüllt sind.

Eine Probe wird als POSITIV für HIV-Antikörper beurteilt:

- wenn mindestens zwei HIV-Antigen-Banden eine Reaktivität von  $\geq 1+$  aufweisen
  - zwei Envelope-Banden desselben HIV-Typs (sgp120 + gp41 oder sgp105 + gp36)
  - ein Envelope-Antigen (sgp120, gp41, sgp105 oder gp36) und die Antigen-Bande p24
- wenn mindestens drei HIV-Antigenbanden eine Reaktivität von  $\geq 1+$  aufweisen:
  - eine der Banden muss ein Envelope-Antigen (sgp120, gp41, sgp105 oder gp36) sein.

Wird ein Ergebnis nach den oben dargestellten Kriterien als HIV-positiv befundet, kann eine Differenzierung vorgenommen werden.



### Unterscheidung

#### *Positiv für HIV-1-Antikörper:*

- Ein HIV-1-Antigen (sgp120 oder gp41) ist positiv ( $\geq 1+$ ): bei höchstens einer HIV-2-Bande (sgp105 oder gp36) ist eine maximale Reaktivität von  $\pm$  zulässig.
- Beide HIV-1-Antigen-Banden (sgp120 und gp41) sind positiv ( $\geq 1+$ ): bei höchstens einer HIV-2-Bande (sgp105 oder gp36) ist eine maximale Reaktivität von 1+ zulässig.

#### *Positiv für HIV-2-Antikörper:*

- Ein HIV-2-Antigen (sgp105 oder gp36) ist positiv ( $\geq 1+$ ): bei höchstens einer HIV-1-Bande (sgp120 oder gp41) ist eine maximale Reaktivität von  $\pm$  zulässig.
- Beide HIV-2-Antigen-Banden (sgp105 und gp36) sind positiv ( $\geq 1+$ ): bei höchstens einer HIV-1-Bande (sgp120 oder gp41) ist eine maximale Reaktivität von 1+ zulässig.

#### *Positiv für HIV-Antikörper (nicht typisierbar):*

- Kombinationen, die den oben dargestellten nicht entsprechen.

### Zusammenfassung der Interpretationskriterien

Eine Bande gilt als positiv, wenn sie eine minimale Reaktivität von 1+ aufweist.

ENV1 = Envelope-Bande für HIV-1: sgp120 und gp41

ENV2 = Envelope-Bande für HIV-2: sgp105 und gp36

Keine Bande positiv	Keine Bande $\pm$	NEG
	1 Bande $\pm$	NEG
	Mindestens 2 Banden $\pm$	IND
1 Bande positiv ( $\geq 1+$ )		IND
2 Banden positiv ( $\geq 1+$ )	Keine ENV-Bande positiv	IND
	1 ENV1 und p24	HIV-1 (*)
	2 ENV1	HIV-1 (*)
	1 ENV2 und p24	HIV-2 (**)
	2 ENV2	HIV-2 (**)
	Andere Kombinationen	IND
Mindestens 3 Banden positiv ( $\geq 1+$ )	Keine ENV-Bande positiv	IND
	1 oder 2 ENV1	HIV-1 (*)
	1 oder 2 ENV2	HIV-2 (**)
	1 ENV1 und 1 ENV2	HIV
	2 ENV1 und 1 ENV2 (***)	
	ENV2 = 1+	HIV-1
	ENV2 > 1+	HIV
	1 ENV1 und 2 ENV2 (***)	
	ENV1 = 1+	HIV-2
	ENV1 > 1+	HIV
	2 ENV1 und 2 ENV 2	HIV

(\*) Wenn beide ENV2-Banden eine Reaktivität von  $\pm$  aufweisen, kann die Probe nicht typisiert werden. Die Probe ist in diesem Fall als HIV-positiv zu bewerten.

(\*\*) Wenn beide ENV1-Antigen-Banden eine Reaktivität von  $\pm$  aufweisen, kann die Probe nicht typisiert werden. Die Probe ist in diesem Fall als HIV-positiv zu bewerten.

(\*\*\*) Wenn die verbleibende Envelope-Bande eine Reaktivität von  $\pm$  aufweist, kann die Probe nicht typisiert werden. Die Probe ist in diesem Fall als HIV-positiv zu bewerten.



## **Interpretationssoftware: LiRAS™ für Infektionskrankheiten**

Das LiRAS™-Softwarepaket für Infektionskrankheiten ist zur Unterstützung der Interpretation der LAA-Ergebnisse bestimmt. Um die jeweils aktuellste Version zu bestellen, setzen Sie sich bitte mit der deutschen Niederlassung von Innogenetics® in Verbindung.

### **ACHTUNG:**

- Verwenden Sie nicht die automatisierte Interpretation ohne die unten beschriebene Limitierung des Verfahrens zu beachten.

## **Einschränkungen des Verfahrens**

- Um ein optimales Testergebnis zu erzielen, muss das beschriebene Testprotokoll genau eingehalten werden.
- Eine Probe, bei der die Streptavidin-Kontrolllinie eine positive Reaktion anzeigt, kann Kreuzreaktionen mit anderen HIV-Antigen-Banden verursachen und kann daher nicht als HIV-positiv gewertet werden.
- Wenn das Testergebnis fraglich ausfiel, wird eine erneute Testung einer Probe des Patienten nach einigen Wochen empfohlen.
- Wenn der positive Befund ausschließlich auf der Bewertung der 2 HIV-Antigen-Banden beruht, muss der Test wiederholt werden.
- Ein negatives Testergebnis schließt eine Virusexposition oder -infektion nicht aus.
- Die Verwendung verdünnter Proben kann zu falschen Ergebnissen führen.

## **Leistungsfähigkeit des Tests**

### **Sensitivität**

#### Serokonversions- und Niedrigtiter-Panels

Intern mit dem Test INNO-LIA™ HIV I/II Score gewonnene Ergebnisse mit *Auto-LIA™*, 3 Stunden Inkubationszeit, und dem manuellen Verfahren, 16 Stunden Inkubationszeit, an 12 BBI-Serokonversions-Panels (PRB 903, 904, 908, 910, 912, 916, 919, 922, 923, 924, 925, 927) und 3 BBI-Niedrigtiter-Panels (PRB 103 -105) wurden mit Western-Blotting und INNO-LIA™ HIV Confirmation verglichen.

Mit beiden Inkubationsmethoden wies INNO-LIA™ HIV I/II Score HIV-Antikörper bei 2 Panels früher als Western-Blotting und bei 9 Panels zur selben Zeit nach. Bei einem Panel wurden mit keiner Methode positive Ergebnisse erhalten. Der INNO-LIA™ HIV I/II Score, der beide Probeninkubationsverfahren verwendet, weist in derselben Zeit HIV-Antikörper wie der INNO-LIA™ HIV-Bestätigungstest nach, der in allen 11 Panels positiv war.

Von den 44 Proben der 3 BBI-Niedrigtiter-Panels waren 36, 38 und 38 Proben bei der Bestimmung mit INNO-LIA™ HIV I/II Score (beide Inkubationsmethoden) und INNO-LIA™ HIV Confirmation positiv. 35 der Proben waren bei Western-Blotting positiv.

#### HIV-positive Proben

Insgesamt 273 HIV-1-positive und 120 HIV-2-positive Proben, die mit Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab und INNO-LIA™ HIV Confirmation positiv befundet worden waren, wurden intern mit *Auto-LIA™*, 3-Stunden-Inkubation, getestet.

262 der 273 HIV-1-positiven Proben wurden als positiv für HIV-1-Antikörper befundet, die anderen 11 Proben waren ebenfalls positiv, konnten aber nicht typisiert werden. Daraus ergeben sich eine Sensitivität von 100% (273/273).

97 der 120 HIV-2-positiven Proben wurden als positiv für HIV-2-Antikörper befundet, 21 Proben waren ebenfalls positiv, konnten aber nicht typisiert werden, 2 Proben waren fraglich. Daraus ergeben sich - einschließlich der 2 fraglichen Proben- eine Sensitivität von 100% (120/120).

### **Spezifität**

#### Blutspender

300 als negativ bewertete Blutspenderproben wurden intern analysiert (manuell, 16-Stunden-Inkubation). Beim Ersttest waren 290 Proben negativ, 9 fraglich und eine positiv für HIV-2-Antikörper. Bei einem Wiederholungstest (Doppelbestimmung) wurde für die zunächst als positiv ermittelte Probe einmal ein positives und einmal ein fragliches Ergebnis erhalten.

Das Ergebnis war positiv mit INNO-LIA™ HIV Confirmation und negativ mit Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab und Genelabs Diagnostics HIV Blot 2.2. Die Spezifität wurde anhand dieser Stichprobe als 96,7% (290/300) berechnet.



**INNOGENETICS®**  
BIOTECHNOLOGY FOR HEALTHCARE

KEY-CODE: **INX80770**  
80540 INNO-LIA™ HIV I/II Score  
B30094 v3  
2010-06-08  
p 13/13

Deutsch

#### Klinische Proben

206 klinische Proben wurden intern getestet (manuell, 16-Stunden-Inkubation), davon 189 mit negativem, 7 mit fraglich und 1 mit positivem Ergebnis.

Die positive Probe wurde bei Neutestung als Doppelbestimmungen als positiv befundet, ebenso mit INNO™ HIV Confirmation, während mit Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab und Genelabs Diagnostics HIV Blot 2.2 ein negatives Ergebnis erhalten wurde. Die aus dieser Probenreihe ermittelte Spezifität liegt bei 96,1% (198/206).

#### Proben mit potentiell zu erwartenden Wechselwirkungen

124 Proben mit potentiell zu erwartenden Wechselwirkungen wurden intern getestet (manuell, 16-Stunden-Inkubation): 117 Proben waren negativ, 7 fraglich. Die aus dieser Probenreihe ermittelte Spezifität liegt bei 94,4% (117/124).

#### **Reproduzierbarkeit**

Vier Laboranten untersuchten ein Panel mit 5 HIV-positiven Proben sowie zwei verschiedene Chargen der Positiv- und Negativkontrolle mit *Auto-LIA™*, 3-Stunden Inkubation. Trotz unterschiedlicher Chargen erhielten die Laboranten mit Ausnahme einer positiven Probe, die in einem Fall als fraglich befundet wurde, identische Ergebnisse.

#### **Handelszeichen**

- INNOGENETICS® und LIA® sind eingetragene Handelszeichen von Innogenetics N.V.
- INNO-LIA™ ist ein Handelszeichen von Innogenetics N.V.