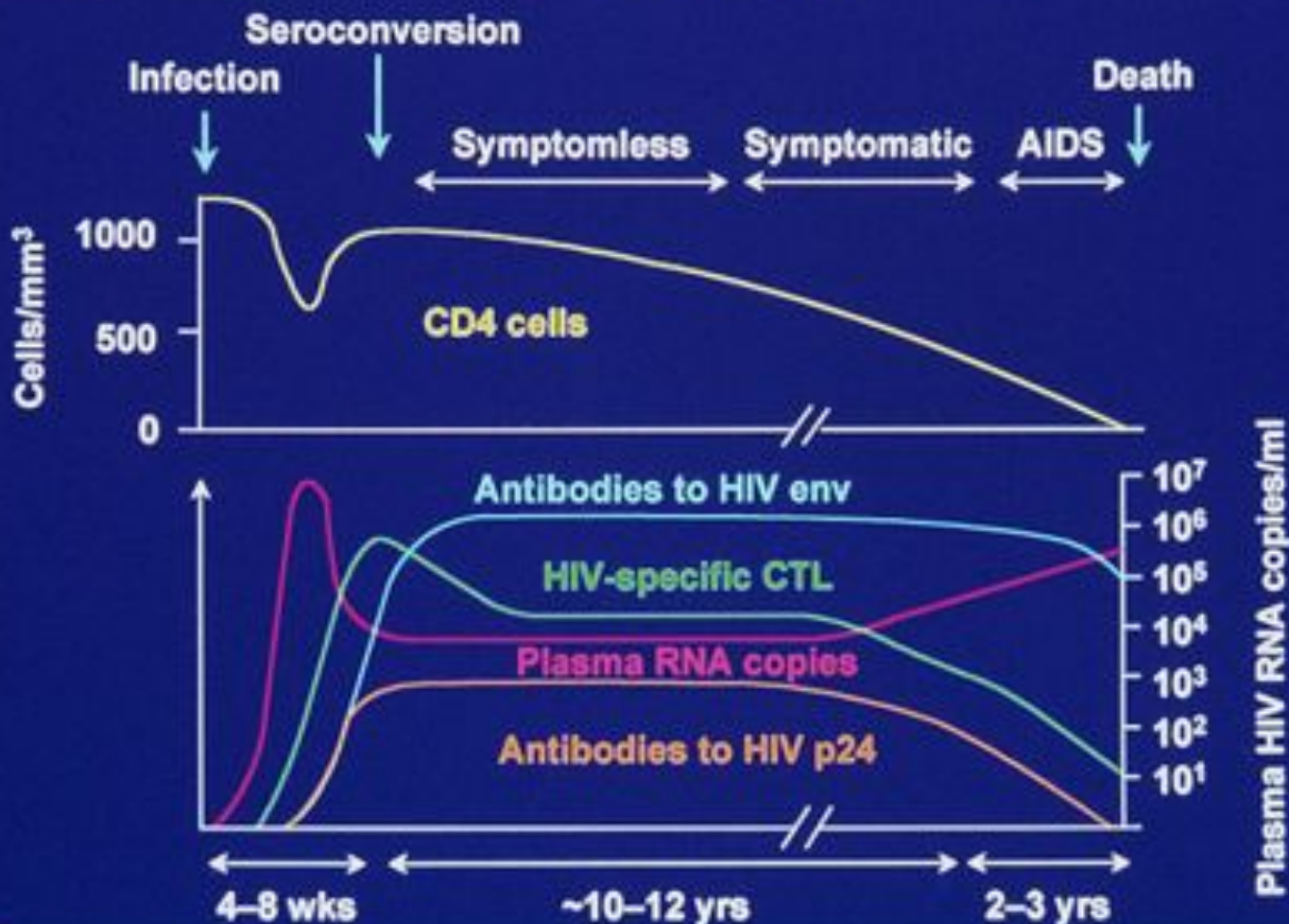


Tecniche diagnostiche per l'infezione da HIV

Quando fare il test?

- Dopo una esposizione al rischio di infezione
- Se la prevalenza di HIV nella propria comunità è alta, è utile effettuare il test regolarmente (una volta all'anno o anche più spesso)
- È necessario che sia trascorso un periodo di tempo sufficiente – almeno 4–8 settimane – perché il test dia un risultato affidabile

Viral marker profile during course of HIV infection



Il “periodo finestra”

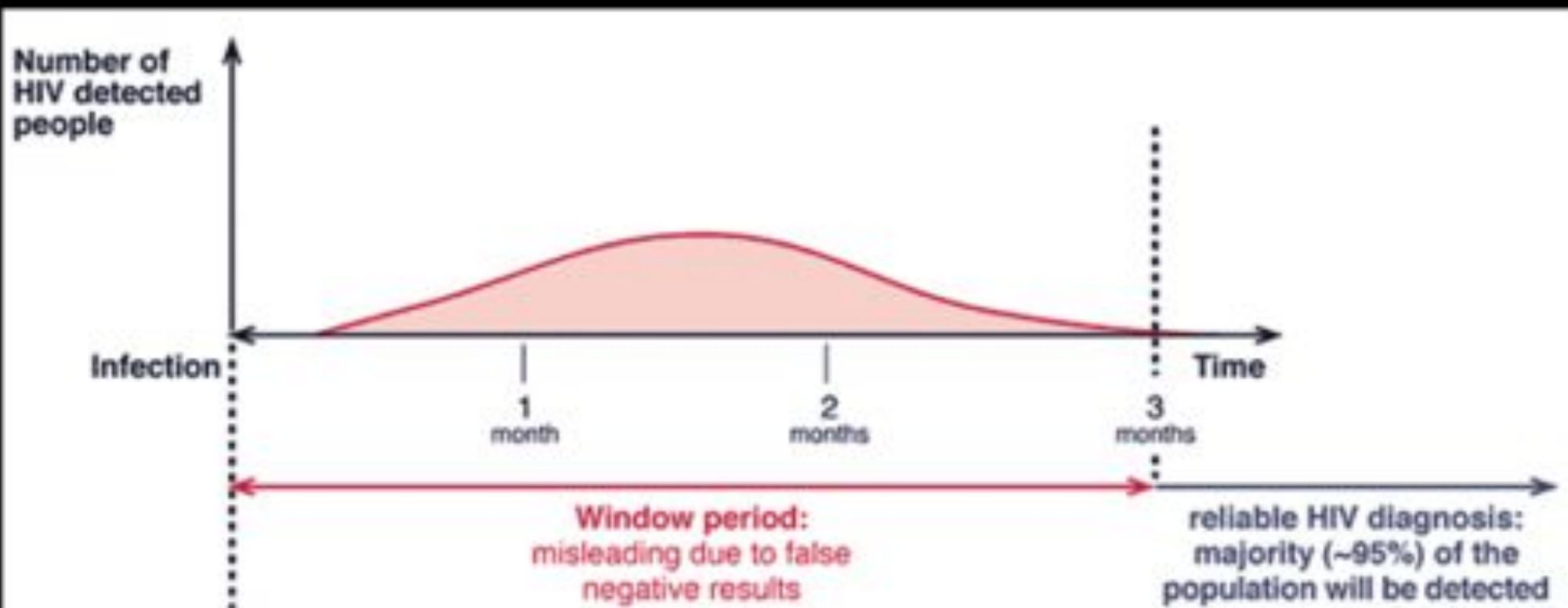
Min. Salute – Istituto Superiore di Sanità
**DOCUMENTO SUI CONTENUTI SCIENTIFICI
RELATIVI ALL'INFEZIONE DA HIV E ALL'AIDS**
DOMANDE E RISPOSTE
(Aggiornamento settembre 2010)

4 **D. Quando è opportuno effettuare il test HIV?**

R. Il test deve essere eseguito dopo 3 mesi (periodo finestra) dall'ultimo comportamento a rischio. Tale periodo di tempo è necessario all'organismo per sviluppare gli anticorpi specifici contro l'HIV.

E' opportuno, fare sempre riferimento alla valutazione del medico che ha prescritto l'esame o del medico, che la persona incontra nel Centro Diagnostico-Clinico.

Il “periodo finestra”



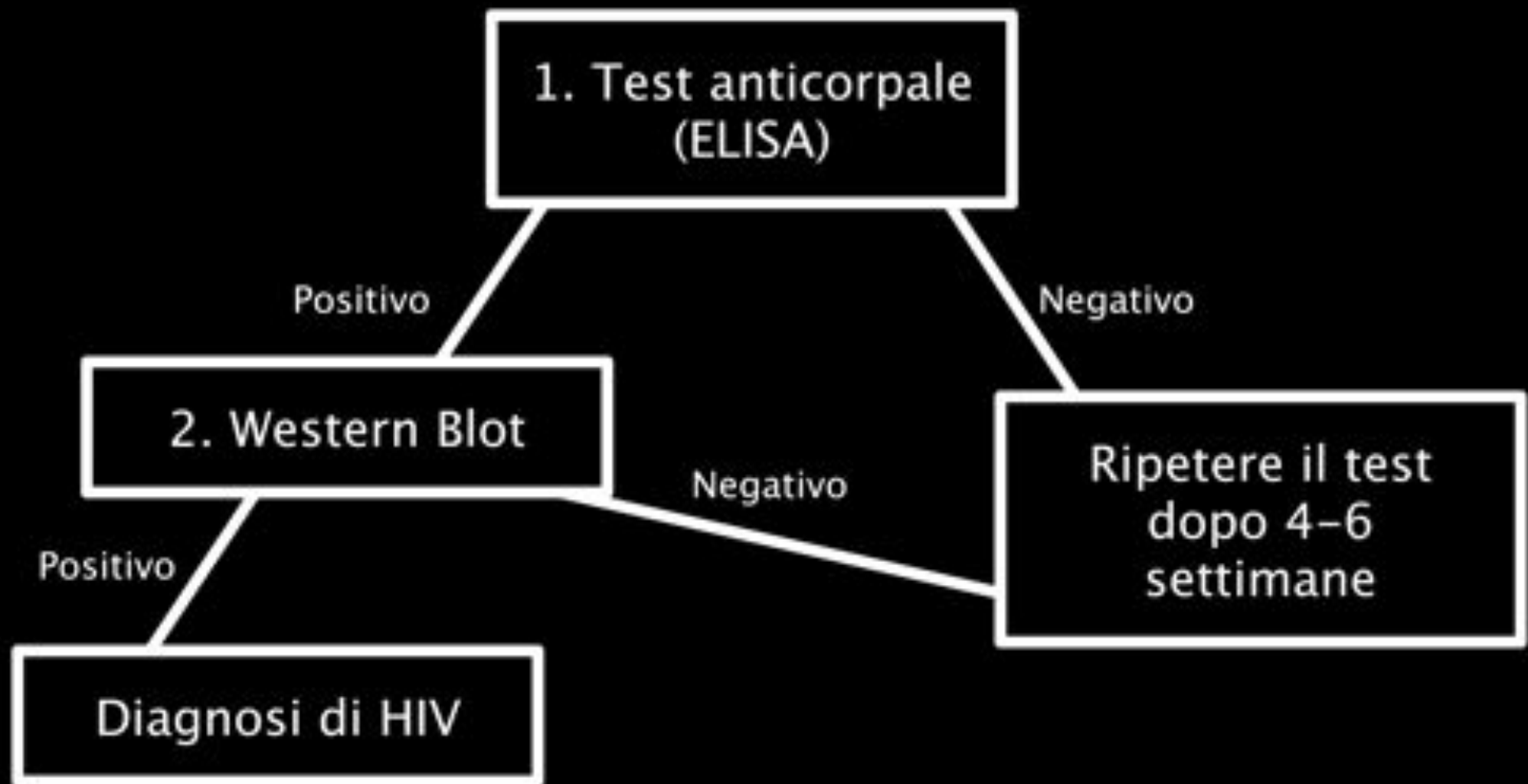
Remark: other detection methods such as p24 can shorten the Window Period by 7-12 days

- Il test HIV riconosce gli anticorpi al virus HIV, non il virus stesso
- Gli anticorpi vengono prodotti qualche tempo DOPO l'infezione
- Il tempo per un test efficace varia da 1 settimana a 6 mesi, a seconda delle caratteristiche dell'individuo e del tipo di test utilizzato

Test usati per la diagnosi dell'infezione da HIV-1

- Test anticorpali (EIA o ELISA, Western Blot)
- Test sull'antigene P24
- HIV DNA
- HIV RNA
- Isolamento del virus (coltura)

Attuale algoritmo



Quante risposte può dare un test?

- Positivo
- Negativo
- Indeterminato
- Falso positivo
- Falso negativo

Un ragazzo sensibile...

Sensibilità di un test =
Capacità di individuare
correttamente la malattia

Sensibilità è la proporzione di
individui malati che risultano
positivi a quel test

Un test altamente sensibile
fornisce pochi risultati
“falsi positivi”



E se entriamo nello specifico...

Specificità di un test =

Capacità di dare correttamente un risultato negativo

Specificità è la
proporzione di
individui sani che
risultano negativi a
quel test

Un test altamente
specifico fornisce pochi
risultati "falsi negativi"



Le false e le velate...

L'ideale sarebbe avere un test sensibile al 100% e specifico al 100%. Ma la realtà non è mai così chiara...

Se l'incidenza è bassa, serve un test molto sensibile per individuare i pochi casi positivi

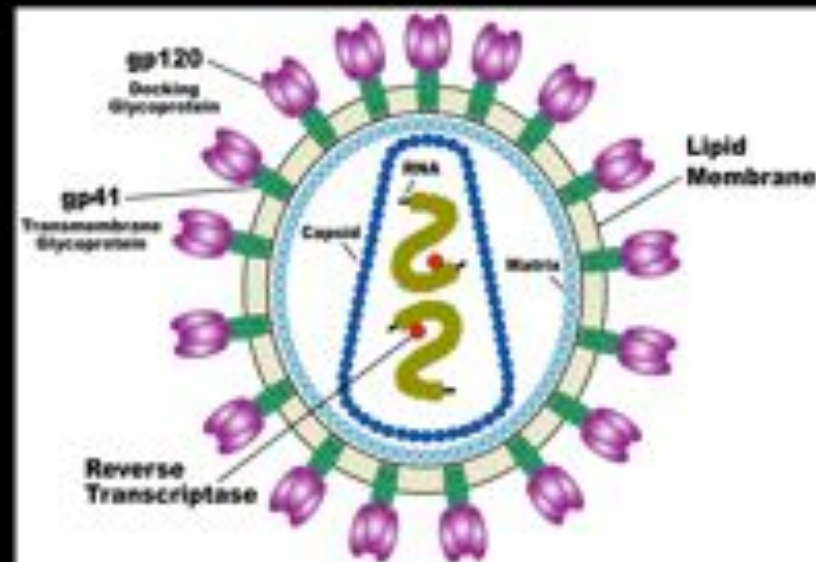
Se l'incidenza è alta, serve un test molto specifico per non avere troppi falsi positivi



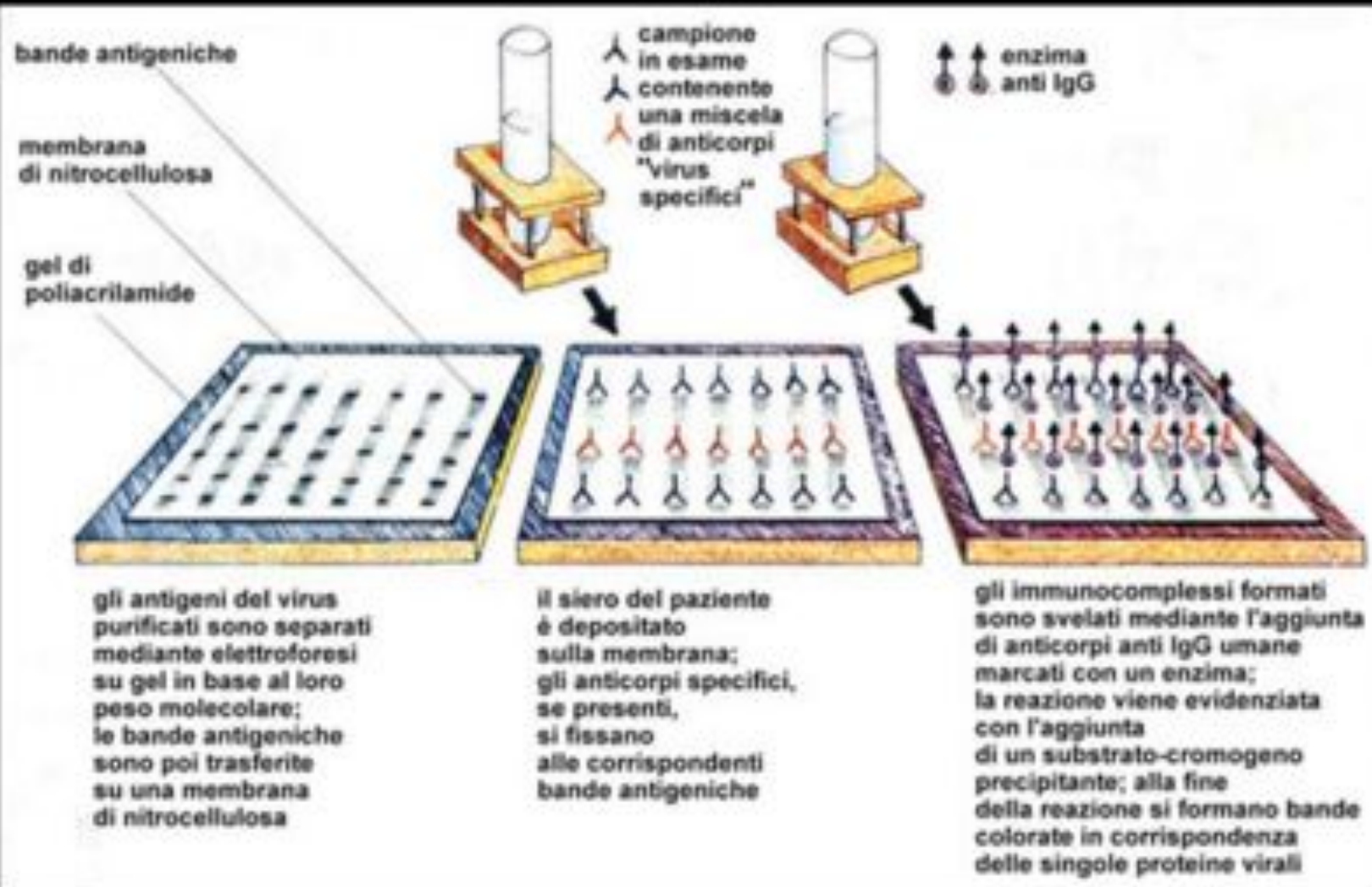
I test esistenti

ELISA – il test di primo livello

- ELISA = *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*
- Rivela gli anticorpi sviluppati dal sistema immunitario contro le proteine gp120 e gp41 della superficie del virus
- Ha una sensibilità del 99,9%
- La percentuale di risultati falsamente negativi varia da uno 0.3% nella popolazione ad alta prevalenza di infezione ad uno 0,001% nella popolazione a bassa prevalenza.

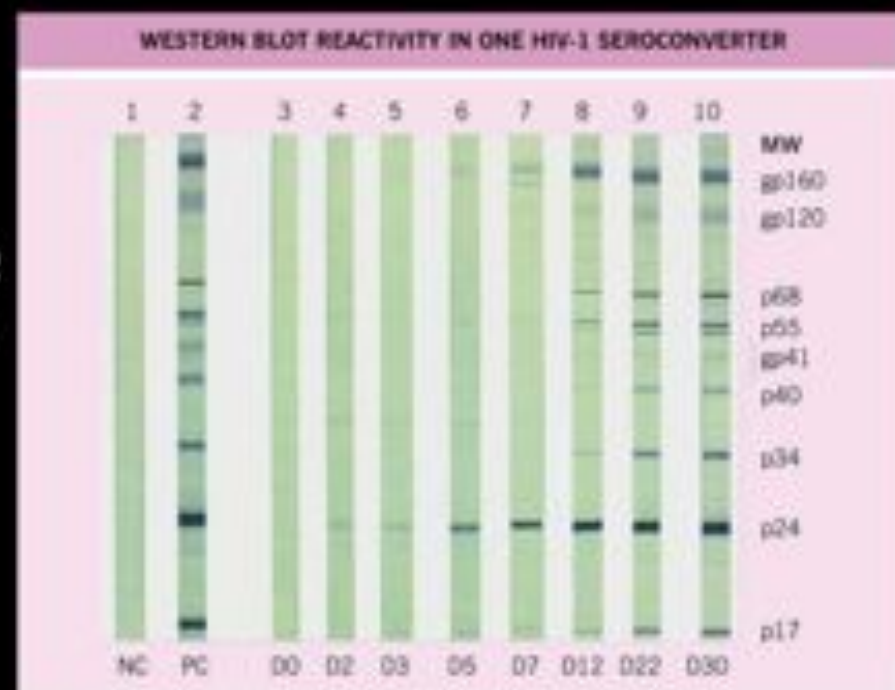


Test ELISA



Test Western Blot

- Riconosce gli anticorpi ad alcune proteine specifiche del virus
- Kit diversi possono avere criteri diversi ma in genere ci sono 9 proteine relative all'HIV che possono essere riconosciute e il test si considera positivo se reagisce ad almeno 2 bande tra p24, gp120 e gp41.
- Può dare risultati positivi, negativi o indeterminati.
- Il Western Blot non può essere usato senza un ELISA positivo a causa dell'alto numero di indeterminati (circa 15%).

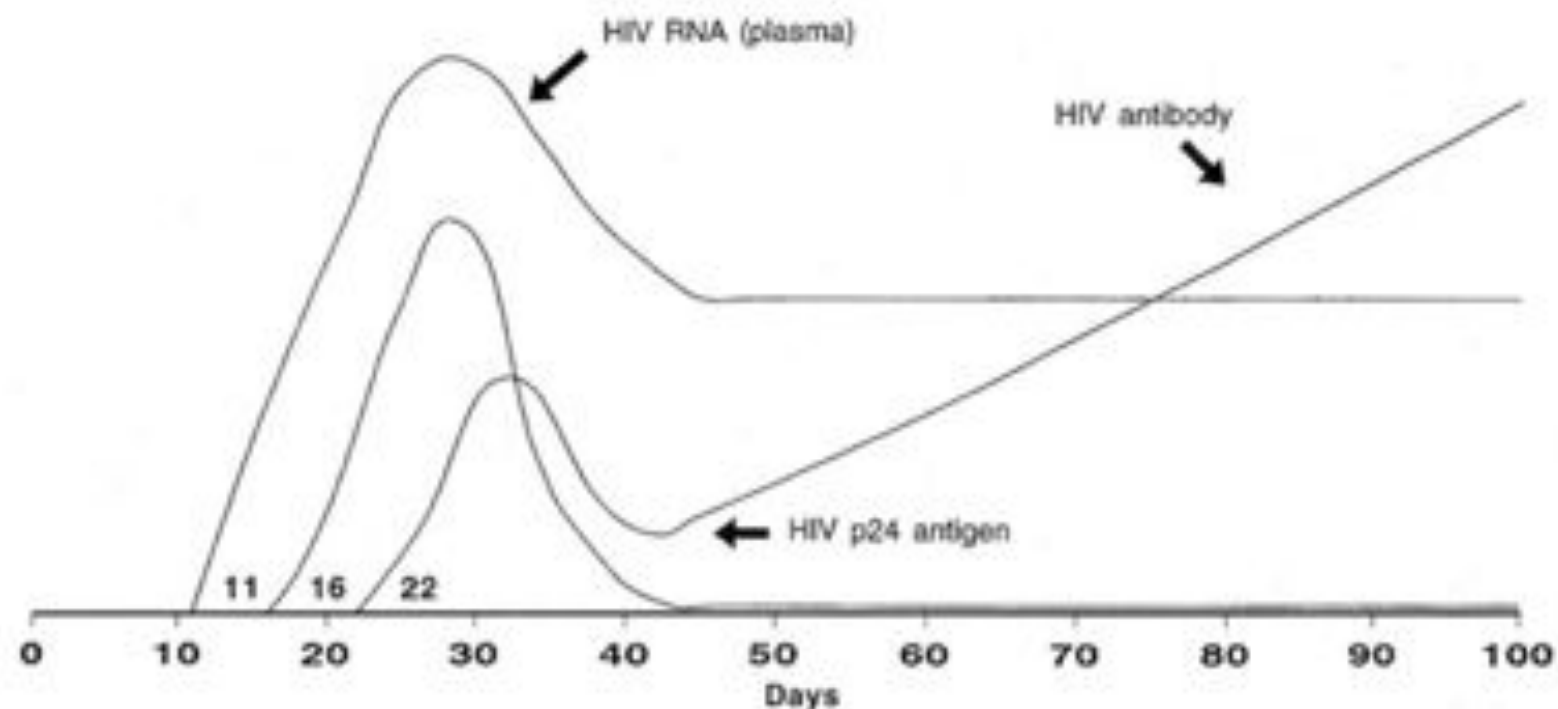


Quanto è affidabile?

- L'uso dell'algoritmo ELISA/WB è molto sensibile e specifico con meno di 1 falso positivo ogni 100.000 test
- La falsa reattività al test può essere determinata da malattie autoimmuni o dalla presenza di altri antigeni
- Il valore predittivo dell'esito dipende dalla prevalenza di HIV nella popolazione testata, qualità del laboratorio, modalità di esecuzione e trascrizione del test.

Una diagnosi più precoce

INTERORGANIZATIONAL TASK FORCE



Theoretical Infectivity

HIV RNA

HIV p24 antigen

HIV antibody

Day 0

Day 11

Day 16

Day 22

5 Days

6 Days

11 Days

Il test p24

- Ricerca l'antigene p24, una proteina presente nella parte interna del virus rilevabile nelle fasi di intensa replicazione virale (infezione acuta o fase avanzata)
- Può essere effettuato dalle 2 alle 6 settimane dopo il contagio
- In caso di risultato negativo va comunque fatto un test ELISA dopo 3 mesi dall'esposizione
- I test ELISA di IV generazione combinano anticorpi e p24

HIV RNA o PCR qualitativa

- Evidenziano direttamente il materiale genetico del virus
- Secondo i CDC di Atlanta e secondo la FDA, con la PCR qualitativa la durata media del periodo finestra si riduce a 12 giorni
- È molto costoso e quindi non viene eseguito di prassi ma solo su richiesta e pagando

I test rapidi

OraQuick Advance HIV-1/2



- CLIA-waived for finger stick, whole blood, oral fluid; moderate complexity with plasma
- Store at room temperature
- Screens for HIV-1 and 2
- Results in 20 minutes

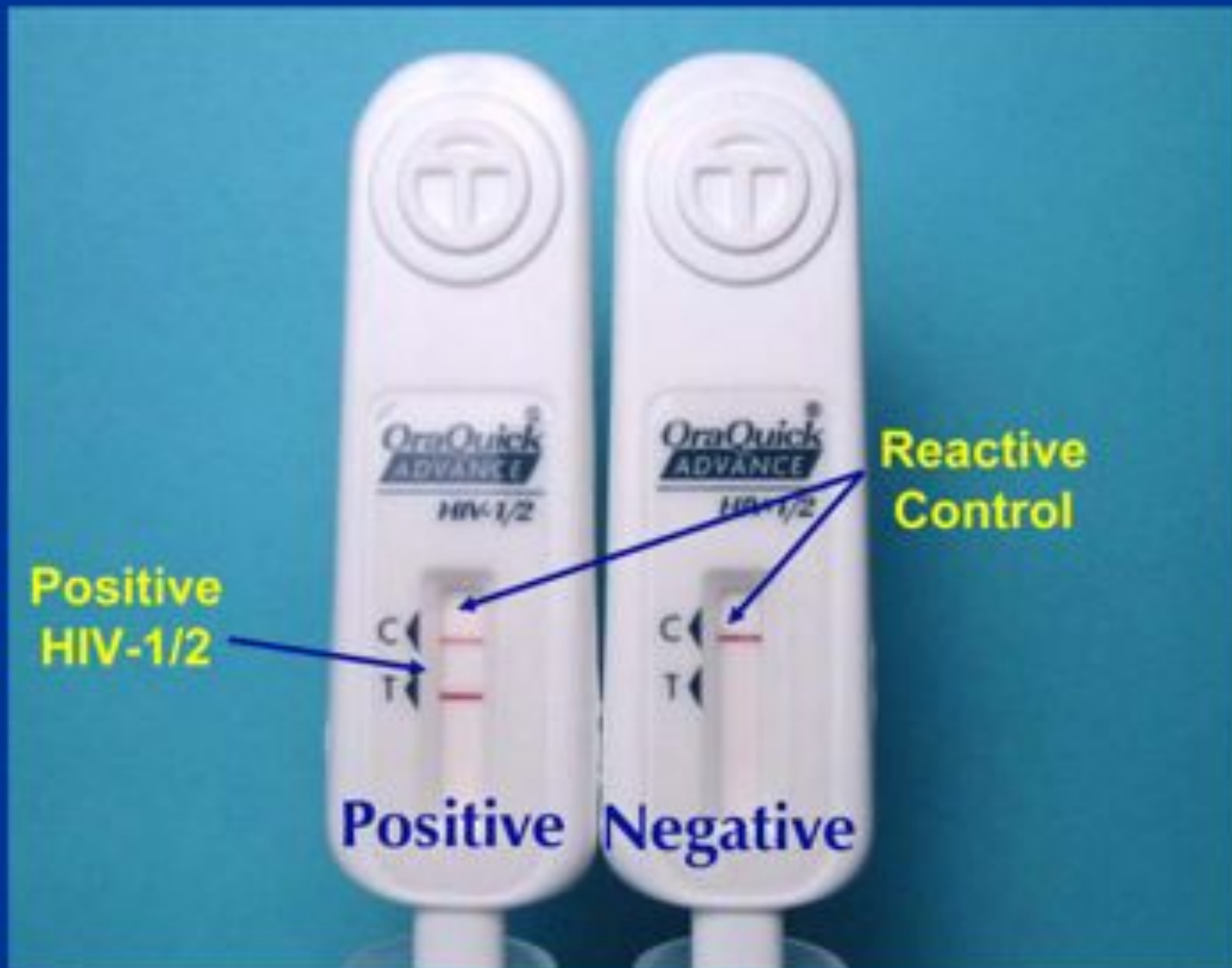


Obtain finger stick specimen...



**Collect oral fluid specimens by swabbing gums
with test device.**

Gloves optional; waste not biohazardous



Read results in 20 – 40 minutes

Economico ma non troppo...

ORAQUICK®

Customer Service 1-888-438-4327

Order Status Cart Checkout Sign In

OraQuick® In-Home HIV Test

SKU #10608337100400

\$39.99

Availability: in stock

Ship up to 6 kits for one flat rate.

Standard (5-10 Days) = \$8.99
2-Day Expedited (3 Days) = \$18.99
Alaska/Hawaii 2-Day Expedited (3 Days) = \$24.95

Buy 1 Kit
Buy 2 Kits
Buy 3 Kits

Qty: 0 Add to Cart Discreet Shipping

OraQuick is an FDA approved over-the-counter HIV test that allows you to test quickly and easily in the comfort of your own home.

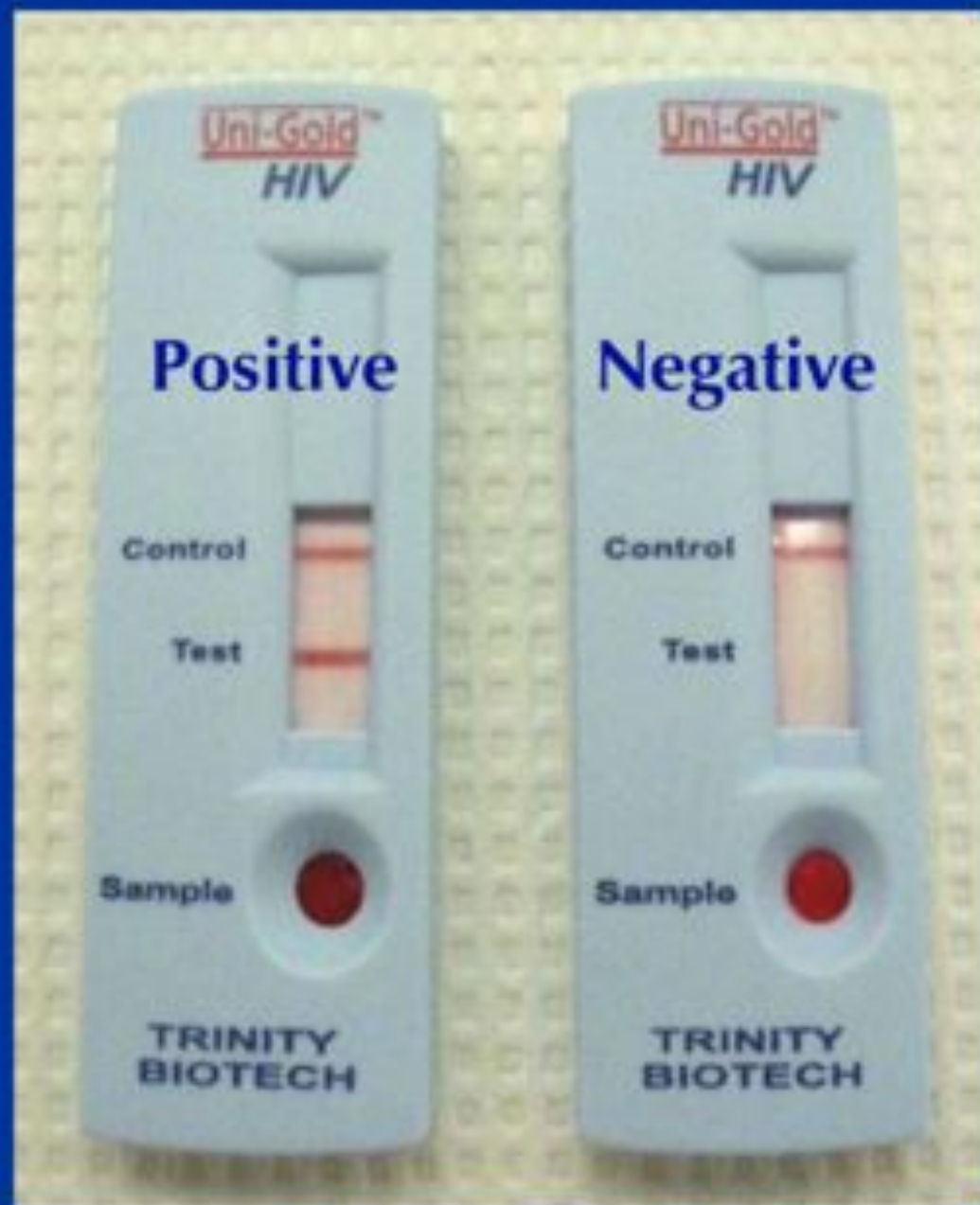
Uni-Gold Recombigen



- CLIA-waived for finger stick, whole blood; moderate complexity with serum, plasma
- Store at room temperature
- Screens for HIV-1
- Results in 10 minutes

Add 1 drop
specimen to well





Read results in 10 -12 minutes

Reveal G2



- CLIA moderate complexity with serum, plasma
- Reconstitute and refrigerate reagents
- Screens for HIV-1
- Perform test in 5 minutes



Centrifuge to obtain serum or plasma



Add buffer to reconstitute conjugate.
(Sufficient for 15 tests; Refrigerate to store) 



Add 3 drops buffer to moisten membrane 



Add one drop of serum or plasma,
followed by 3 drops of buffer.



Add 4 drops of Colorimetric Detection Agent 



Add 3 drops of buffer to wash 



Reactive



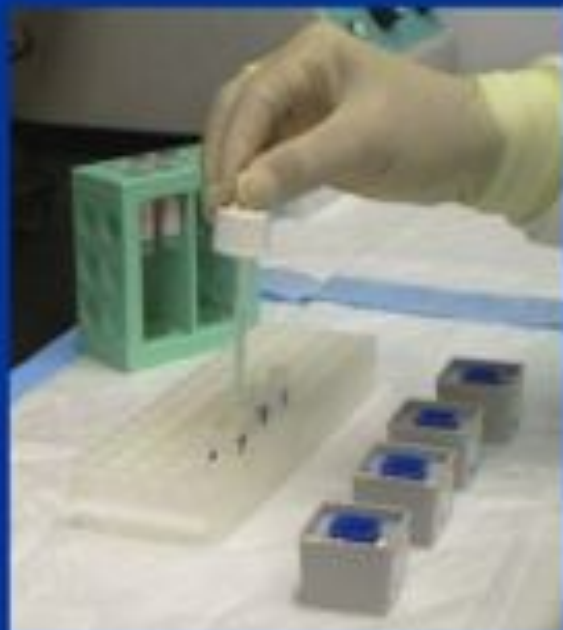
Negative

Read results immediately

Multispot HIV-1/HIV-2



- CLIA moderate complexity with serum, plasma
- Refrigerate reagents
- Distinguishes HIV-1 from HIV-2
- Perform test in 15 minutes



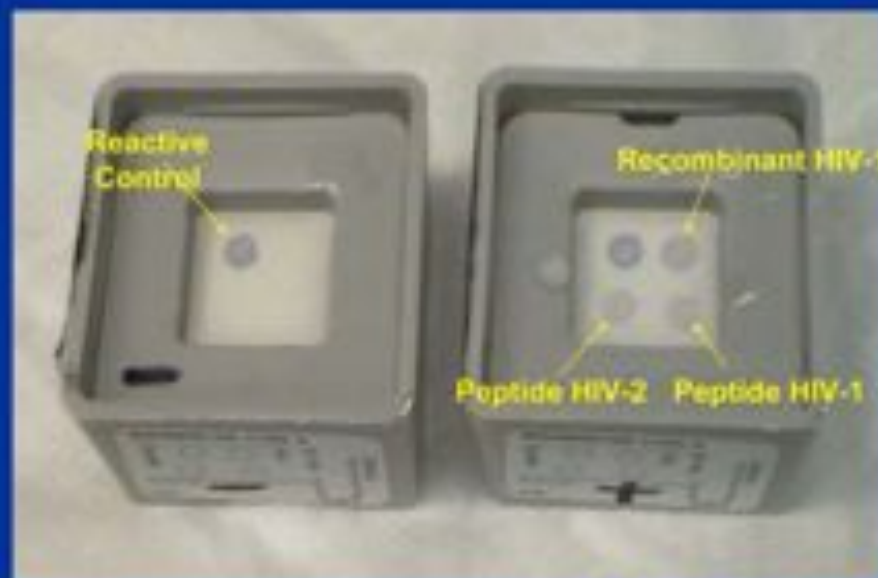
Dilution of plasma or serum



Remove and discard pre-filter



Several timed reagent & wash steps



Negative

HIV-1 & HIV-2
Positive



Quattro test rapidi approvati dall'FDA

	Sensibilità (IC 95%)	Specificità (IC 95%)
OraQuick Advance		
- su sangue	99.6 (98.5 - 99.9)	100 (99.7 - 100)
- su fluido orale	99.3 (98.4 - 99.7)	99.8 (99.6 - 99.9)
- su plasma	99.6 (98.5 - 99.9)	99.9 (99.6 - 99.9)
Uni-Gold Recombinant		
- su sangue	100 (99.5 - 100)	99.7 (99.0 - 100)
- su siero/plasma	100 (99.5 - 100)	99.8 (99.3 - 100)
Reveal G2		
- su siero	99.8 (99.2 - 100)	99.1 (98.8 - 99.4)
- su plasma	99.8 (99.0 - 100)	98.6 (98.4 - 98.8)
Multispot		
- su siero/plasma	100 (99.9 - 100)	99.9 (99.8 - 100)
- per HIV-2	100 (99.9 - 100)	

Quattro test rapidi approvati dall'FDA

Valore predittivo di un esito positivo

Prevalenza HIV	OraQuick	Reveal	Uni-Gold	Single EIA
10%	99%	92%	97%	98%
5%	98%	85%	95%	96%
2%	95%	69%	87%	91%
1%	91%	53%	77%	83%
0,5%	83%	36%	63%	71%
0,3%	75%	25%	50%	60%
0,1%	50%	10%	25%	33%
Specificità	99,9%	99,1%	99,7%	99,8%