

Test rapido per l'individuazione di anticorpi IgG e IgM al Chikungunya su campioni di sangue intero, siero o plasma umano.

Solo per uso diagnostico professionale in vitro.

**[USO PREVISTO]**

Il test rapido Chikungunya IgG/IgM (Sangue intero/Siero/Plasma) è un test immunografico rapido per l'individuazione degli anticorpi IgG e IgM del Chikungunya in sangue intero, siero o plasma umano. È pensato per essere usato come test di screening e come aiuto nella diagnosi di infezione da CHIK. Tutti i campioni reattivi al test rapido IgG/IgM Chikungunya dovranno essere confermati con un metodo di controllo alternativo e ulteriori ricerche cliniche.

**[SINTESI]**

Chikungunya è un'infezione virale trasmessa dal morso di una zanzara Aedes aegypti infetta. È caratterizzata da irritazione, febbre e forti dolori articolari (artralgia) che durano solitamente dai tre ai sette giorni. Il nome deriva da una parola Makonde che significa "quella che piega" in riferimento alla postura piegata che si sviluppa in seguito ai sintomi dolorosi artritici causati dalla malattia. È più frequente durante le stagioni piovose nelle aree tropicali del mondo, soprattutto in Africa, Sud-Est asiatico, sud dell'India e Pakistan<sup>1,2</sup>.

I sintomi sono spesso clinicamente indistinguibili da quelli osservati nella febbre dengue. Infatti, in India si sono verificati casi di infezione doppia da dengue e chikungunya<sup>3</sup>. A differenza della dengue, le manifestazioni emorragiche sono relativamente rare e più spesso la malattia è una febbre auto limitante. Perciò è molto importante distinguere clinicamente le infezioni di dengue e CHIK. La CHIK viene diagnosticata tramite l'analisi sierologica e l'isolamento virale su topi o colture tissutali. Un test immunologico IgM è il metodo di analisi di laboratorio più pratico<sup>4</sup>.

**[PRINCIPIO]**

Il test rapido Chikungunya IgG/IgM (Sangue intero/Siero/Plasma) è una test qualitativo su membrana per l'individuazione degli anticorpi IgG e IgM del Chikungunya in sangue intero, siero o plasma umano. La membrana è pre-rivestita con IgG anti-umano di topo e IgM anti-umano di topo sull'area della linea del test. Durante l'esecuzione del test, il campione di sangue intero, siero o plasma reagisce con il coniugato oro-colloidale dell'antigene di Chikungunya ricombinato. Il composto migra cromatograficamente verso l'alto sulla membrana per azione capillare andando a reagire con l'IgG anti-umano di topo e/o l'IgM anti-umano di topo sulla membrana producendo una linea colorata.

La presenza di questa linea colorata indica un risultato positivo, mentre la sua assenza è indice di un risultato negativo. Come controllo procedurale, comparirà sempre una linea colorata nell'area di controllo ad indicare che è stato usato un volume corretto di campione e che la membrana è stata imbevuta.

**[REAGENTI]**

Il dispositivo del test contiene un coniugato oro-colloidale di antigene di Chikungunya ricombinato, IgG anti-umano di topo e IgM anti-umano di topo sulla membrana.

**[PRECAUZIONI]**

- Solo per uso diagnostico professionale in vitro. Non usare oltre la data di scadenza.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area di manipolazione dei campioni o dei kit.
- Tutti i campioni devono essere considerati come potenzialmente pericolosi e manipolati alla stregua di agenti infettivi. Osservare le precauzioni prestabilite contro i pericoli microbiologici durante tutta la procedura e seguire le procedure standard per l'adeguato smaltimento dei campioni.
- Indossare abbigliamento protettivo come camici da laboratorio, guanti usa e getta e occhiali protettivi durante l'analisi dei campioni.
- Umidità e temperatura possono influenzare negativamente i risultati

**[CONSERVAZIONE E STABILITÀ]**

Conservare a temperatura ambiente o refrigerato (2-30°C). Il test è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione sigillata. Il test deve rimanere nella confezione sigillata fino al momento dell'uso. NON CONGELARE. Non usare oltre la data di scadenza.

**[RACCOLTA E PREPARAZIONE CAMPIONE]**

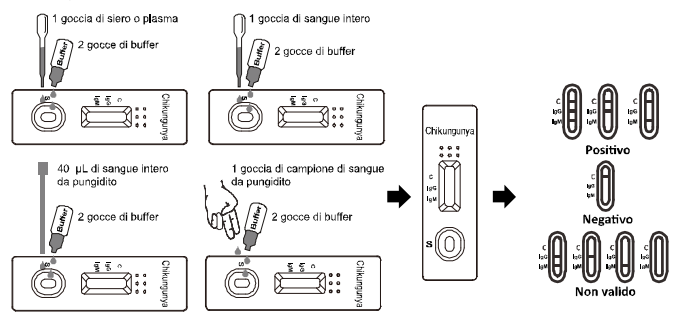
- Il test rapido Chikungunya IgG/IgM (Sangue intero/Siero/Plasma) può essere eseguito su sangue intero (da venipuntura o pungidito), siero o plasma.
- Per raccolta di campioni di sangue intero da pungidito:
  - Lavare la mano del paziente con sapone e acqua tiepida o pulirla con cotone imbevuto di alcol. Lasciar asciugare.
  - Massaggiare la mano senza toccare il luogo della puntura strofinando la mano verso la punta del dito medio o anulare.
  - Pungere la pelle con una lancetta sterile. Rimuovere il primo segno di sangue.
  - Massaggiare delicatamente la mano dal polso al palmo fino al dito per far uscire una goccia sferica di sangue dalla puntura.
- Versare il campione di sangue intero dal pungidito sul test usando un tubo capillare:
  - Mettere l'estremità del tubo capillare a contatto con il sangue finché non si riempie con circa 40 µL. Evitare la formazione di bolle d'aria.
- Posizionare la pompetta all'estremità superiore del tubo capillare, poi spremela per versare il sangue intero sull'area per i campioni del test.
- Versare il campione di sangue intero dal pungidito sul test usando gocce in sospensione:
  - Posizionare il dito del paziente in modo che la goccia di sangue sia direttamente sopra l'area per campioni del test.
  - Far cadere 1 goccia in sospensione di sangue da pungidito al centro dell'area per campioni sul test, o muovere il dito del paziente in modo che la goccia in sospensione tocchi il centro dell'area per campioni. Evitare di toccare con il dito direttamente l'area per campioni.
  - Separare il siero o plasma dal sangue il prima possibile per evitare emolisi. Usare solo campioni chiari e non emolizzati.
  - Il test andrebbe effettuato immediatamente dopo la raccolta dei campioni. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi. I campioni di siero e plasma possono essere conservati a 2-8°C fino a 3 giorni. Per una lunga conservazione, i campioni devono essere conservati al di sotto di -20°C. Il sangue intero raccolto per venipuntura dovrebbe essere conservato a 2-8°C se si intende eseguire il test entro 2 giorni dalla raccolta. Non congelare i campioni di sangue intero. I campioni di sangue intero ottenuti con pungidito dovrebbero essere testati immediatamente.
  - Portare i campioni a temperatura ambiente prima del test. I campioni congelati dovranno essere completamente scongelati e mescolati accuratamente prima del test. I campioni don devono essere congelati e scongelati ripetutamente.
  - Se i campioni devono essere spediti, dovranno essere imballati secondo le legislazioni locali in merito al trasporto di agenti eziologici.

**[MATERIALI]**

- Supporti Test
- Contagocce
- Buffer
- Foglietto illustrativo
- Contenitori raccolta campione
- Materiali necessari ma non forniti
- Centrifuga (solo per plasma)
- Timer
- Solo per sangue intero da pungidito
- Lancette
- Tubi capillari eparinizzati e pompetta di distribuzione

**[ISTRUZIONI D'USO]**

- Portare il test, il campione e/o i controlli a temperatura ambiente (15-30°C) prima di effettuare il test. 1. Portare la confezione a temperatura ambiente prima di aprirla. Rimuovere il test dalla confezione sigillata e usarlo il prima possibile. I risultati migliori si ottengono se il test viene eseguito entro un'ora.
- Posizionare il test su una superficie pulita e piana. Per campione di **Siero o Plasma**: tenere il contagocce verticalmente e trasferire 1 goccia di siero o plasma (circa 40µL) nell'area del campione (S), aggiungere poi 2 gocce di buffer (circa 80µL) e avviare il timer. Vedi illustrazione di seguito. Per campione di **sangue intero da venipuntura**: tenere il contagocce verticalmente e trasferire 1 goccia di sangue intero (circa 40µL) nell'area del campione (S), aggiungere poi 2 gocce di buffer (circa 80µL) e avviare il timer. Vedi illustrazione di seguito. Per campione di **Sangue Intero da Pungidito**: con tubo capillare: riempire il tubo capillare e trasferire circa 40 µL di sangue intero da pungidito nell'area campione del test, aggiungere poi 2 gocce di buffer (circa 80 µL) e avviare il timer. Vedi illustrazione di seguito. Con gocce in sospensione: far cadere 1 goccia di campione di sangue da pungidito (circa 40µL) nell'area campione del test, aggiungere poi 2 gocce di buffer (circa 80µL) e avviare il timer. Vedi illustrazione di seguito.
- Attendere la comparsa della/e linea/e colorate/le. Leggere i risultati a 15 minuti. Non interpretare i risultati dopo 20 minuti.



**[INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI]**

(Si prega di fare riferimento all'illustrazione sopra)

**IgG POSITIVO:** Compaiono due linee distinte. Una dovrebbe essere nella zona di controllo (C) e l'altra nell'area IgG.

**IgM POSITIVO:** Compaiono due linee distinte. Una dovrebbe essere nella zona di controllo (C) e l'altra nell'area IgM.

**IgG e IgM POSITIVI:** Compaiono tre linee colorate distinte. Una dovrebbe essere nella zona di controllo (C) e le altre due nelle zone IgG e IgM.

NOTA: L'intensità di colore nella zona del test (T) varia a seconda della concentrazione di anticorpi di Chikungunya presenti nel campione. Perciò, ogni tonalità di rosso nella regione del test dovrebbe essere considerata positiva.

**NEGATIVO:** Comparire una linea colorata nella zona di controllo (C). Non compare nessuna linea rossa o rosa nelle zone IgG e IgM.

**NON VALIDO:** Non compare la linea di controllo. Le ragioni più probabili per la mancata comparsa della linea di controllo sono un volume di campione insufficiente o tecniche procedurali scorrette. Rivedere la procedura e ripetere il test con un nuovo kit. Se il problema persiste, interrompere l'uso del kit immediatamente e contattare il proprio distributore locale.

**[CONTROLLO QUALITÀ]**

Nel test è incluso un controllo procedurale. La linea che compare nella zona di controllo (C) è considerato un controllo procedurale interno. Conferma che è stato usato un volume sufficiente di campione ed una corretta tecnica procedurale. Gli standard di controllo non sono forniti con il presente kit; tuttavia, si consiglia di testare controlli positivi e negativi come buona pratica di laboratorio a conferma della corretta procedura del test e per verificarne la prestazione.

**[LIMITI]**

- Le Istruzioni d'Uso e l'Interpretazione dei Risultati vanno osservate attentamente durante il test per la presenza di anticorpi di Chikungunya su siero, plasma o sangue intero da soggetti singoli. La mancata conformità con le procedure indicate può indurre risultati inaccurati.
- Il test rapido Chikungunya IgG/IgM (Sangue intero/Siero/Plasma) si limita all'individuazione qualitativa di anticorpi di Chikungunya su siero, plasma o sangue intero umano. L'intensità della striscia del test non dovrebbe avere una correlazione diretta con il titolo di anticorpi nel campione.
- Un risultato negativo per un singolo soggetto indica l'assenza di anticorpi Chikungunya individuabili. Tuttavia, un risultato negativo del test non preclude la possibilità di esposizione al Chikungunya.
- Un risultato negativo può comparire se la quantità di anticorpi di Chikungunya presenti nel campione è al di sotto dei limiti di individuazione del test, o se gli anticorpi individuati non sono presenti nello stadio della malattia in cui il campione è stato raccolto.
- I risultati ottenuti con questo test dovrebbero essere interpretati esclusivamente insieme ad altre procedure diagnostiche e ricerche cliniche.

**[VALORI ATTESI]**

Il test rapido Chikungunya IgG/IgM (Sangue intero/Siero/Plasma) è stato confrontato con un test EIA per IgG/IgM Chikungunya leader sul mercato. La correlazione tra questi due sistemi è almeno del 92%.

**[CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE]**

**Sensibilità e Specificità**

Un totale di 93 campioni di soggetti sensibili sono stati testati con il test rapido IgG/IgM Chikungunya e con un kit EIA IgM Chikungunya in commercio. Il confronto per tutti i soggetti è illustrato nella tabella che segue.

**Risultati IgM**

Metodo	EIA		Risultato totale
	Positivo	Negativo	
test rapido IgG/IgM Chikungunya (Sangue intero/Siero/Plasma)	65	0	65
	7	21	28
Risultato totale	72	21	93

Sensibilità relativa: 90.3% (95%CI:\*81.0%-96.0%)  
Specificità relativa: > 99.9% (95%CI:\*86.7%-100%)  
Accuratezza: 92.5% (95%CI:\*85.1%-96.9%)  
\*intervalli di confidenza  
Un totale di 68 campioni di soggetti sensibili sono stati testati con il test rapido IgG/IgM Chikungunya e con un kit EIA IgM Chikungunya in commercio. Il confronto per tutti i soggetti è illustrato nella tabella che segue.

**Risultati IgG**

Metodo	EIA		Risultato totale
	Positivo	Negativo	
test rapido IgG/IgM Chikungunya (Sangue intero/Siero/Plasma)	33	1	34
	2	32	34
Risultato totale	35	33	68

Sensibilità relativa: 94.3% (95%CI:\*80.8%-99.3%)  
Specificità relativa: 97.0% (95%CI:\*84.2%-99.9%)  
Accuratezza: 95.6% (95%CI:\*87.6%-99.1%)  
\*intervalli di confidenza

**Precisione**

**Intra-test**

La precisione intra-test è stata determinata usando 10 repliche di tre campioni: un negativo, un positivo a medio titolo di IgM Chikungunya, un positivo ad alto titolo di IgM Chikungunya, un positivo a medio titolo di IgG Chikungunya, un positivo ad alto titolo di IgG Chikungunya. Il negativo, un positivo a basso titolo di IgM Chikungunya, un positivo ad alto titolo di IgM Chikungunya, un positivo a basso titolo di IgG Chikungunya e un positivo ad alto titolo di IgG Chikungunya sono stati correttamente identificati il 100% delle volte.

**Inter-Test**

La precisione inter-test è stata determinata usando 10 test indipendenti sugli stessi cinque campioni: un negativo, un positivo a medio titolo di IgM Chikungunya, un positivo ad alto titolo di IgM Chikungunya, un positivo a medio titolo di IgG Chikungunya e un positivo ad alto titolo di IgG Chikungunya. Sono stati testati tre lotti diversi di test rapido Chikungunya (Sangue intero/Siero/Plasma) su un periodo di 10 giorni usando campioni negativo, positivo a medio titolo di IgM Chikungunya, positivo ad alto titolo di IgM Chikungunya, positivo a medio titolo di IgG Chikungunya e positivo ad alto titolo di IgG Chikungunya. I campioni sono stati identificati correttamente il 100% delle volte.

**Cross-reattività**

Il test rapido Chikungunya IgG/IgM (Sangue intero/Siero/Plasma) è stato testato su campioni positivi a HAMA, RF, HBSAg, HBSAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, Syphilis, HIV, H. Pylori, MONO, CMV, Rubella e TOXO. I risultati non hanno mostrato alcuna cross-reattività.

**Sostanze che possono interferire**

Le seguenti sostanze che possono interferire sono state aggiunte a campioni negativi e positivi a Chikungunya.

- Acetaminofene: 20 mg/dL
- Acido acetilsalicilico: 20 mg/dL
- Aspirina: 20mg/dL
- Creatina: 200 mg/dL
- Bilirubina: 1g/dL
- Acido urico: 20mg/dl
- Nessuna delle sostanze alle concentrazioni testate ha interferito con il test.
- Caffeina: 20 mg/dL
- Acido gentisico: 20 mg/dL
- Albumina: 2 g/dL
- Emoglobina 100mg/dL
- Acido ossalico: 60mg/dL
- Metanolo: 10%

**[BIBLIOGRAFIA]**

- Shah KV, Gibbs CJ Jr, Banerjee G. Virological investigation of the epidemic of haemorrhagic fever in Calcutta: isolation of three strains of Chikungunya virus. Indian J Med Res 1964; 52 :676-83.
- Powers AM, Brault AC, Tesh RB, Weaver SC. Re-emergence of Chikungunya and O'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. J Gen Virol 2000;81:471-9
- Myers RM and Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. Science 1967;157:1307-8.
- Thein S, La Linn M, Aaskov J, Aung MM, Aye M, Zaw A, Myint A. Development of a simple indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of immunoglobulin M antibody in serum from patients following an outbreak of chikungunya virus infection in Yangon, Myanmar. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1992 86:438-42.

**Indice dei simboli**

	Consultare le istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentante autorizzato
	Solo per uso diagnostico in vitro		Utilizzare per		Non riutilizzare
	Conservare tra 2-30 °C		Numero di lotto		Catalogare #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata		Fabbricante		

**SCREEN ITALIA S.r.l.**  
Via dell'Artigianato, 16  
06089 - Torgiano - Perugia - Italia  
www.screenitalia.it info@screenitalia.it



Numero: 145770001  
Valido dal: 2019-11-20