

## FILARIASIS CARD

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test Immunocromatografico su CARD per la determinazione qualitativa e differenziata degli anticorpi IgG e IgM anti-parassiti filaria linfatica in siero, plasma e sangue intero

### I. DESTINAZIONE D'USO

Il FILARIASIS CARD Mascia Brunelli è un test immunocromatografico a flusso laterale per la determinazione simultanea e la differenziazione degli anticorpi IgG e IgM specifici anti-parassiti filaria linfatica (*W. Bancrofti* e *B. malayi*), in campioni di siero, plasma umano o sangue intero. Serve per lo screening e come aiuto nella diagnosi dell'infezione da parassiti filaria linfatica. Ogni risultato positivo deve essere confermato da metodi alternativi.

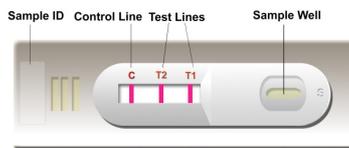
### II. SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La filariosi linfatica conosciuta come elefantiasi, causata principalmente da *W. bancrofti* e *B. malayi*, colpisce circa 120 milioni di persone in oltre 80 paesi. Le zanzare, pungendo un soggetto infetto, prelevano le microfilarie che, al loro interno, si sviluppano in larve al terzo stadio. La malattia è trasmessa all'uomo dalla puntura di zanzare infette che introducono nell'organismo ospite le larve di filaria al terzo stadio. In generale, è necessaria una ripetuta e prolungata esposizione alle larve infette per sviluppare l'infezione nell'uomo.

La diagnosi parassitologica definitiva è dimostrare la presenza di microfilarie nel sangue. Tuttavia, il test gold standard è limitato dalla necessità di raccolta del sangue notturno e mancanza di sensibilità adeguata. E' disponibile in commercio un test per la determinazione degli antigeni circolanti, ma è limitato per *W. bancrofti*. Inoltre, la microfilaremia e l'antigenemia si sviluppano dopo mesi o anni dall'esposizione. L'individuazione di anticorpi fornisce uno dei primi mezzi per individuare l' infezione parassitaria da Filaria. La presenza di anticorpi IgM suggerisce un'infezione in corso, mentre, gli IgG corrispondono alla fase avanzata di infezione. L'utilizzo di proteine ricombinanti elimina le cross-reazioni in individui che hanno altri parassiti. Il FILARIASIS CARD Mascia Brunelli è un test rapido che utilizza antigeni ricombinanti per rilevare simultaneamente IgG e IgM per la *W. bancrofti* e parassiti *B. malayi* senza restrizioni relative alla raccolta del campione.

### III. PRINCIPIO DEL TEST

Il kit **FILARIASIS CARD Mascia Brunelli** è un test immunocromatografico a flusso laterale. La strip all'interno della cassetta è composta da: 1) un pad colorato contenente antigeni ricombinanti di *W. bancrofti* e antigeni comuni di *B. malayi* coniugati con oro colloidale (coniugato Filariasi) e IgG di topo coniugate con oro colloidale, 2) una membrana di nitrocellulosa contenente due bande test (T1 e T2) e una banda di controllo (C). La banda T1 è adsorbita con anticorpo monoclonale anti-IgM umane per la determinazione di IgM anti- *W. bancrofti* e *B. malayi*, la banda T2 è adsorbita con reagenti per le determinazione di IgG anti-*W. bancrofti* e *B. malayi*, e la banda C è adsorbita con IgG di capra anti-coniglio.



Quando viene dispensato un volume adeguato di campione nel pozzetto S, il campione migra per capillarità lungo la membrana. Se nel campione sono presenti anticorpi IgM contro *W. bancrofti* o *B. malayi* essi si legheranno al coniugato Filariasi. L'immunocomplesso formato viene catturato sulla membrana dall'anticorpo IgM precedentemente adsorbito, formando una banda colorata a livello della T1, indicando un risultato positivo per le IgM.

Se sono presenti anticorpi IgG contro *W. bancrofti* o *B. malayi*, essi si legheranno al coniugato Filariasi. L'immunocomplesso viene catturato sulla membrana dai reagenti precedentemente adsorbiti, formando una banda colorata a livello della T2, indicando un risultato positivo per le IgG.

L'assenza delle bande T1 e T2 indica un risultato negativo. Il test contiene un controllo interno (banda C) che si colora per l'accoppiamento dell'immunocomplesso di IgG di capra anti-coniglio / IgG di topo-oro coniugato indipendentemente dalla formazione delle bande test. Altrimenti il test non è valido e deve essere ripetuto.

### IV. REAGENTI E MATERIALI FORNITI

- Il kit da 25 test contiene delle buste sigillate con:
  - una card (cassetta)
  - gocciolatore di plastica
  - una bustina di essiccante.
- Diluente del campione (1 fialone da 3.0 ml)
- Istruzioni per l'uso

### V. MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

- Cronometro
- Pungidito.

### VI. PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico *in vitro* e solo per uso professionale.
2. Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di effettuare il test. Un uso improprio potrebbe dare luogo a risultati errati.
3. Aprire la busta della card appena prima lo svolgimento del test
4. Non usare oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta della confezione.
5. Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (15-30 °C) prima dell'uso.
6. Non usare reagenti provenienti da kit diversi.
7. Non usare campioni di sangue emolizzato per il test.
8. Indossare indumenti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso. Lavarsi bene le mani dopo aver effettuato il test.
9. Non mangiare, bere o fumare durante l'analisi.
10. Manipolare tutti i campioni come fossero infettivi. Smaltire i campioni e i componenti del kit seguendo le buone regole del laboratorio.
11. Il risultato del test deve essere letto entro 15 minuti dalla deposizione del campione. Non leggere oltre il 15° minuto.
12. Non effettuare il test in stanze con forti correnti d'aria, per esempio vicino ad un ventilatore o all'aria condizionata.



## VII. PREPARAZIONE DEI REAGENTI E ISTRUZIONI DI CONSERVAZIONE

Tutti i reagenti forniti sono pronti all'uso. Conservare i dispositivi test non ancora aperti a 2°C-30°C. Se conservati a 2°C-8°C, assicurarsi che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente prima di essere aperti. Il dispositivo test è stabile fino alla data di scadenza riportata sulla busta. Non congelare o esporre a temperature superiori a 30°C.

## VIII. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEL CAMPIONE

Considerare il materiale di origine umana come potenzialmente infettivo e manipolare secondo le procedure standard di biosicurezza.

### Plasma

1. Raccogliere i campioni di sangue in provette con tappo viola, blu o verde (contenenti rispettivamente EDTA, citrato o eparina in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.
2. Separare il plasma per centrifugazione.
3. Trasferire il plasma in un'altra provetta contrassegnata.

### Siero

1. Raccogliere i campioni di sangue in una provetta con tappo rosso (senza anticoagulanti in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.
2. Attendere che il sangue coaguli.
3. Separare il siero per centrifugazione.
4. Trasferire il siero in un'altra provetta contrassegnata.

Testare i campioni il prima possibile. Conservare i campioni a 2°C-8°C se non testati immediatamente per un massimo di 5 giorni. Per un periodo più prolungato conservarli congelati a -20°C. Evitare continui congelamenti e scongelamenti.

Prima di effettuare il test, scongelare e portare a temperatura ambiente lentamente i campioni, agitandoli delicatamente. I campioni che contengono materiale corpuscolare devono essere centrifugati. Non usare campioni torbidi, emolizzati o lipemici; potrebbero dare interferenze sul risultato.

### Sangue intero

Le gocce di sangue si possono ottenere sia da puntura venosa che da puntura del dito. Non usare sangue emolizzato. I campioni di sangue intero devono essere conservati a 2-8°C se non testati immediatamente. Tali campioni devono essere testati entro 24 ore dal prelievo.

## IX. PROCEDIMENTO

Step 1: Lasciare che i campioni e i reagenti refrigerati raggiungano temperatura ambiente. Miscelare bene i campioni prima di usarli.

Step 2: Aprire la busta ed estrarre la card. Metterla su una superficie piana e pulita

Step 3: Identificare la card con il numero del campione.

### Step 4: Per sangue intero

Mettere una goccia di sangue intero (circa 40-50 µl) nel pozzetto S

Aggiungere immediatamente 1 goccia (circa 35-50 µl) di Diluente del campione



### Per siero o plasma

Riempire la pipetta con il campione.

Tenendo la pipetta in posizione verticale, dispensare 1 goccia (circa 30-45 µL) di campione nel pozzetto S evitando la formazione di bolle d'aria.

Aggiungere immediatamente 1 goccia (circa 35-50 µL) di Diluente del campione.



Step 5: Far partire il cronometro.

Step 6: Il risultato è leggibile entro 15 minuti. I risultati positivi potrebbero essere visibili anche entro 1 minuto.

**Non leggere oltre i 15 minuti. Per evitare confusione gettare i test subito dopo la loro interpretazione.**

## X. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

1. **NEGATIVO:** formazione della sola banda di controllo. Nel campione non c'è una quantità sufficiente di anticorpi IgM e IgG anti-W. Bancrofti o B. malayi. Il risultato è negativo.



2. **POSITIVO:**

- 2.1 formazione di due bande: C e T1. Nel campione è presente una quantità di anticorpi IgM anti-W. Bancrofti o B. malayi rilevabile. Il risultato è positivo.



**2.2** formazione di due bande: C e T2. Nel campione è presente una quantità di anticorpi IgG anti-*W. Bancrofti* o *B. malayi* rilevabile. Il risultato è positivo.



**2.3** formazione di tre bande: C, T1 e T2. Nel campione ci sono quantità rilevabili di anticorpi IgM e IgG anti-*W. Bancrofti* o *B. malayi*. Il risultato è positivo.



*I campioni che risultano positivi dovrebbero essere confermati da metodi alternativi e da dati clinici prima della diagnosi definitiva.*

**3. NON VALIDO:** se non compare la banda di controllo (C) il test non è valido, indipendentemente dalla presenza delle bande test (T1 o T2), come illustrato di seguito. Ripetere il test con una nuova card.



## XI. CARATTERISTICHE FUNZIONALI

### Dati clinici per il test IgM

Sono stati confrontati 24 campioni da pazienti con filariosi linfatica acuta e 200 campioni raccolti da zone esenti da filariosi, utilizzando il test FILARIASIS CARD Mascia Brunelli. I risultati sono raccolti nella seguente tabella:

Stato clinico	FILARIASIS Card		Totale
	Positivo	Negativo	
<b>Filariosi acuta</b>	23	1	24
<b>Negativo</b>	0	200	200
<b>Totale</b>	23	201	224

Sensibilità relativa: 95.8% , Specificità relativa: 100.0%, Accuratezza 99.6%

### Dati clinici per il test IgG

Sono stati confrontati 26 campioni da pazienti con filariosi linfatica cronica e 200 campioni raccolti da zone esenti da filariosi, utilizzando il test FILARIASIS CARD Mascia Brunelli. I risultati sono raccolti nella seguente tabella:

Stato clinico	FILARIASIS Card		Totale
	Positivo	Negativo	
<b>Filariosi cronica</b>	24	2	26
<b>Negativo</b>	0	200	200
<b>Totale</b>	24	202	226

Sensibilità relativa: 92.3% , Specificità relativa: 100.0%, Accuratezza 99.1%

## XII. LIMITI

- Devono essere seguite attentamente tutte le istruzioni per il procedimento del test e l'interpretazione dei risultati. In caso contrario si potrebbero generare risultati non accurati.
- Il test FILARIASIS CARD Mascia Brunelli permette la determinazione qualitativa delle IgM e IgG anti-*W. Bancrofti* e *B. malayi* in siero umano, in plasma o in sangue intero. L'intensità della banda test non indica una correlazione lineare con la concentrazione degli anticorpi nel campione.
- Un risultato negativo indica assenza di quantità rilevabili di anticorpi IgM o IgG anti-*W. bancrofti* o *B. malayi* nel campione. Tuttavia, un risultato negativo non preclude la possibilità di esposizione all'infezione con *W. bancrofti* o *B. malayi*.
- Si può avere un risultato negativo se la quantità di IgM o IgG anti- *W. bancrofti* o *B. malayi* presente nel campione è inferiore al limite di rilevabilità del test, o se gli anticorpi che vengono rilevati non sono presenti al momento del prelievo in una determinata fase della malattia.
- Alcuni campioni contenenti alte concentrazioni di anticorpi eterofili e di fattore reumatoide possono influenzare il risultato atteso.
- I risultati ottenuti con questo test dovrebbero essere interpretati solo insieme ad altri test diagnostici e supportati da dati clinici.

## XIII. BIBLIOGRAFIA

- Lymphatic filariasis: the disease and its control. Fifth report of the WHO Expert Committee on Filariasis. WHO Tech Rep Ser 1992; 281-871.
- Michael E, Bundy DAP, Grenfell BT. Re-assessing the global prevalence and distribution of lymphatic filariasis. Parasitology 1996; 112:405-428.
- Eberhard ML, Lammie PJ. Laboratory diagnosis of filariasis. Clin. Lab Med 1991; 11:977-1010.
- More SJ, Copeman DB. A highly specific and sensitive monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. Trop Med Parasitol 1990; 41:403-406
- Lammie PJ, Weil G, et al: Recombinant antigen-based antibody assays for the diagnosis surveillance of lymphatic filariasis-a multiplecenter trial. Flaria Jornal 2004; 3: 9-18.
- Baskar LK, Srikanth TR, et al: Development and evaluation of a rapid flow-through immunofiltration test using recombinant filarial antigen for diagnosis of brugian and bancroftian filariasis. Microbiol Immunol. 2004; 48:519-25



 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura	 LOT	Codice del lotto (EXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)	 REF	Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

**CONTENUTO**

Filariasis card  
Diluente del campione  
Istruzioni per l'uso

**Cod. VQ85300 (25 test)**

25 pezzi  
1 x 3,0 ml  
1 pezzo

Codice Ramo CND W0105099099

