

Test rapido per l'individuazione qualitativa degli anticorpi del Vaiolo delle Scimmie su sangue intero, siero o plasma umano. Solo per uso diagnostico professionale in vitro.

**USO PREVISTO**

Il Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie è un test immunocromatografico a scorrimento laterale per l'individuazione qualitativa degli anticorpi del Vaiolo delle Scimmie nel sangue intero, siero o plasma per coadiuvare la diagnosi di infezione da Vaiolo delle Scimmie.

**SINTESI**

Il Vaiolo delle Scimmie è un orthopoxvirus zoonotico che incidentalmente causa negli umani una patologia simile al vaiolo, anche se con una mortalità decisamente inferiore. Questo virus è clinicamente rilevante a causa della sua diffusione nell'Africa occidentale e centrale, con focolai anche nell'Emisfero Occidentale dovuti al commercio di animali esotici e viaggi internazionali.

La trasmissione può avvenire attraverso il contatto con fluidi corporei, lesioni cutanee o goccioline respiratorie (droplet) degli animali infetti direttamente o indirettamente via fomiti contaminati. Anche se la trasmissione da persona a persona è stata limitata finora, il modello matematico nel contesto del calo dell'immunità di gregge agli orthopoxvirus riflette un rischio superiore della diffusione della malattia tra esseri umani. I Centri per il Controllo e la Prevenzione delle Malattie (CDC) raccomandando l'isolamento in camera a pressione negativa e le precauzioni standard per il contatto e i droplet nel contesto sanitario con aumento delle precauzioni aeree ove possibile.

In seguito all'ingresso per qualsiasi via (orofaringea, nasofaringea o intradermica) il virus del vaiolo delle scimmie si replica nel sito di inoculazione e si diffonde attraverso i linfonodi. Successivamente, la viremia iniziale porta alla diffusione virale e all'interessamento di altri organi. Questo coincide con il periodo di incubazione e generalmente ha una durata di 7-14 giorni con un limite massimo di 21 giorni.<sup>1</sup>

**PRINCIPIO**

Il Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma) è un test immunocromatografico a scorrimento laterale per l'individuazione qualitativa degli anticorpi del Vaiolo delle Scimmie in campioni di sangue intero, siero o plasma. In questo test, IgG di topo anti-umani e IgM di topo anti-umani rivestono le zone della linea del test dei rispettivi test.

Durante l'esecuzione del test, gli anticorpi del virus del vaiolo delle scimmie presenti nel campione di sangue intero, siero o plasma reagiscono con le particelle di proteina ricombinante il virus del Vaiolo delle Scimmie che ricoprono la striscia del test, poi il complesso anticorpo-antigene viene catturato dall'IgG di topo anti-umano e/o IgM di topo anti-umano sulla membrana tramite migrazione. La presenza di una linea colorata nella zona del test indica un risultato positivo per l'infezione da virus del Vaiolo delle Scimmie, mentre la sua assenza indica un risultato negativo. Come controllo procedurale, deve comparire sempre una linea colorata nella zona della linea di controllo ad indicare che è stata usata una quantità adeguata di campione e la membrana si è imbevuta correttamente.

**REAGENTI**

Il test contiene IgG di topo anti-umano, IgM di topo anti-umano come reagenti di cattura e proteina ricombinante il virus del vaiolo delle scimmie come reagenti di individuazione. IgG di capra anti-topo e IgG di topo sono impiegati nel sistema della linea di controllo.

**PRECAUZIONI**

- Solo per uso diagnostico *in vitro*. Non usare oltre la data di scadenza.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area di manipolazione di campioni e reagenti del kit.
- Indossare abbigliamento protettivo come camici da laboratorio, guanti usa e getta e protezione per gli occhi durante il test sui campioni.
- Umidità e temperatura possono influenzare negativamente i risultati.
- I test usati vanno smaltiti secondo i regolamenti locali.

**CONSERVAZIONE E STABILITÀ**

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

**PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE**

- Il Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma) può essere eseguito usando sangue intero.
- È possibile usare sia sangue intero da pungidito che da venipuntura.
- Per prelevare **campioni di sangue intero da pungidito**:
  - Lavare la mano del paziente con sapone e acqua tiepida o pulirla con un tampone imbevuto di alcol. Lasciar asciugare.
  - Massaggiare la mano senza toccare il sito della puntura, sfregando la mano verso la punta del dito medio o anulare.
  - Pungere la pelle con una lancetta sterile. Rimuovere la prima traccia di sangue.
  - Sfregare delicatamente la mano dal polso verso il palmo fino al dito fino a formare una goccia rotonda di sangue sul sito della puntura.
  - Versare il campione di sangue intero da pungidito sul test usando un **contagocce**.
  - Separare il siero o plasma dal sangue appena possibile per evitare emolisi. Usare solo campioni chiari e non emolizzati.
- Il test dovrebbe essere eseguito immediatamente dopo il prelievo del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi. Il test dovrebbe essere eseguito immediatamente dopo il prelievo del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi. Il sangue intero prelevato per venipuntura dovrebbe essere conservato a 2-8 °C se il test viene eseguito entro 3 giorni dal prelievo. Per la conservazione a lungo termine, i campioni dovrebbero essere mantenuti al di sotto dei -20°C. Il sangue intero prelevato tramite pungidito dovrebbe essere testato 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 non devono essere congelati e scongelati ripetutamente per più di tre volte.
- Se i campioni devono essere spediti, dovranno essere imballati secondo i regolamenti locali circa il trasporto degli agenti eziologici.
- EDTA K2, sodio eparina, citrato di sodio e ossalato di potassio possono essere usati come anticoagulanti nella provetta per la raccolta del campione di sangue.

**MATERIALI**

- Cassette Test
- Contagocce
- Foglioletto illustrativo
- Buffer
- Contenitore raccolta campione
- Tampone con alcol
- Lancette
- Centrifuga
- Timer

**ISTRUZIONI PER L'USO**

**Portare il test, il campione e il buffer a temperatura ambiente (15-30 °C) prima di effettuare il test.**

- Estrarre il test dalla confezione sigillata e usarlo il prima possibile. I risultati migliori si ottengono quando il test viene effettuato entro un'ora dall'apertura della confezione.
- Posizionare il test su una superficie pulita e piana.
- Versare il Campione e il Buffer sulla cassetta del test e leggere i risultati secondo le illustrazioni che seguono.

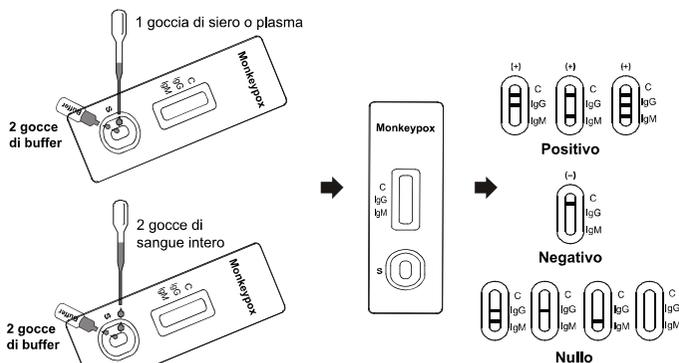
**Nota:** il campione e il buffer possono essere versati solo nello specifico pozzetto contrassegnato dalla lettera "S". Non usare il buffer oltre 6 mesi dall'apertura della fiala.

**Per campioni di siero o plasma:**

- Utilizzando un contagocce: tenere il contagocce in verticale e trasferire **1 goccia** intera di siero o plasma (circa 10µL) nel pozzetto per campioni (S). **Quindi aggiungere 2 gocce di buffer (circa 80 µL) e avviare il timer.**
- Utilizzando una pipetta: per trasferire **10µL** di campione nel pozzetto(S) del campione, quindi aggiungere **2 gocce di buffer** (circa 80µL) e avviare il timer.

**Per campioni di sangue intero da puntura venosa o campioni di sangue intero prelevati dal polpastrello:**

- Utilizzando un contagocce: tenere il contagocce in verticale, trasferire **2 gocce piene di sangue intero** (circa 20µL) nel pozzetto per campioni (S), quindi aggiungere **2 gocce di buffer** (circa 80µL) e avviare il timer.
  - Utilizzando una pipetta: per trasferire **20µL di sangue intero nel pozzetto del campione (S)**, aggiungere **2 gocce di buffer** (circa 80 µL) e avviare il timer.
4. Attendere che appaiano le linee colorate. **Leggi i risultati a 10 minuti.** Non interpretare il risultato dopo 20 minuti.



**INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

(Si prega di fare riferimento all'illustrazione precedente)

**POSITIVO:** \* Appaiono due o tre linee colorate. Una linea colorata dovrebbe sempre apparire nella regione della linea di controllo (C) e un'altra o due linee colorate dovrebbero trovarsi nella regione della linea del test (IgG/IgM).

**NOTA:** L'intensità del colore nella zona della linea del test varia a seconda della concentrazione di anticorpi del virus del Vaiolo delle Scimmie presente nel campione. Perciò ogni sfumatura di colore nella zona della linea del test (IgG/IgM) dovrebbe essere considerata positiva.

**NEGATIVO:** **Compare una linea colorata nella zona di controllo (C).** Non compare nessuna linea colorata nella zona del test.

**NULLO:** **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 considerata un controllo procedurale interno. Conferma che è stato usato un volume sufficiente di campione ed una corretta tecnica procedurale. I controlli esterni non sono forniti con questo kit, tuttavia, si consiglia di testare controlli positivi e negativi come buona pratica di laboratorio per confermare il procedimento del test e verificarne il corretto funzionamento.

**LIMITI**

- Il Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma) è solo per uso diagnostico *in vitro*. Questo test dovrebbe essere usato per l'individuazione di anticorpi del Virus del Vaiolo delle Scimmie in campioni di sangue intero, siero o plasma. Questo test qualitativo non è in grado di determinare né un valore quantitativo né il tasso di crescita della concentrazione degli anticorpi del Virus del Vaiolo delle Scimmie.
- Il Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma) indicherà soltanto la presenza di anticorpi del Virus del Vaiolo delle Scimmie e non deve essere usato come unico criterio per la diagnosi di infezione da Virus del Vaiolo delle Scimmie.
- Come per tutti i test diagnostici, tutti i risultati dovrebbero essere valutati unitamente ad altre informazioni cliniche a disposizione del medico.
- Se il risultato del test è negativo e i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire un test di follow-up usando altri metodi clinici. Un risultato negativo non esclude in alcun modo la possibilità di infezione da virus del Vaiolo delle Scimmie.
- L'ematocrito del sangue intero dovrebbe essere tra il 25% e il 65%.

**CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE**

**Sensibilità e Specificità**

Il Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma) è stato confrontato con il kit Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie PCR. I risultati sono stati tabulati come di seguito.

Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma)	Metodo		PCR		Risultati Totalia
	Risultati		Positivo	Negativo	
	Positivo	IgM	1	2	11
		IgG+IgM	5		
		IgG	3		
	IgG+IgM Negativo	1	198	199	
<b>Risultati Totalia</b>		<b>10</b>	<b>200</b>	<b>210</b>	

Sensibilità Relativa: 90.0% (95%CI\*: 55.5%-99.75%) \*Intervallo di confidenza

Specificità Relativa: 99.0% (95%CI\*: 96.43%-99.88%)

Accuratezza: 98.57% (95%CI\*: 95.88%-99.70%)

**Precisione**

**Intra-Test**

La precisione intra-test è stata determinata usando 10 repliche di tre campioni: un negativo, un positivo basso e un positivo alto. I valori negativo, positivo basso, e positivo alto sono stati identificati correttamente il >99% delle volte.

**Inter-Test**

La precisione inter-test è stata determinata da 10 test indipendenti sugli stessi tre campioni: un negativo, un positivo basso e un positivo alto. Sono stati testati tre lotti diversi del Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma) su un periodo di 3 giorni usando campioni negativi, positivi bassi e positivi alti. I campioni sono stati identificati correttamente il > 99% delle volte.

**Cross-reattività**

Il Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma) è stato testato su campioni positivi a IgG anti-HAV, HBsAg, HBsAb, anti-HCV, anti-HIV, anti-RF, HAMA, TP anti-Silidice, anti-*H.pylori*, IgG anti-Toxoplasma, IgM anti-Toxoplasma, IgA anti-Rosolia, IgM anti-Rosolia, IgG anti-CMV, IgM anti-CMV, anti-SARS-CoV-2. I risultati non hanno mostrato alcuna cross-reattività.

**Sostanze interferenti**

I composti che seguono sono stati testati con il Test Rapido dell'Anticorpo del Virus del Vaiolo delle Scimmie (Sangue intero/Siero/Plasma) e non è stata osservata alcuna interferenza.

Acetaminofene: 20mg/dL	Caffeina: 20mg/dL	EDTA: 10mg/dL
Acido Acetilsalicilico: 20mg/dL	Acido Gentisico: 20mg/dL	Etanolo: 10%
Acido Ascorbico: 2g/dL	Fenilpropanolamina: 20mg/dL	Glucosio: 20mg/dL
Bilirubina: 1000mg/dL	Acido Salicilico: 20mg/dL	Fenotiazina: 20mg/dL

**BIBLIOGRAFIA**

- Moore M, Zahra F. Monkeypox. 2022 May 22. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 34662033.

**Indice dei simboli**

	Consultare le istruzioni per l'uso o consultare le istruzioni per l'uso elettroniche		Contenuto sufficiente per <n> test		Limite di temperatura
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>		Codice lotto		Numero di catalogo
	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea		Data di scadenza		Non riutilizzare
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata e consultare le istruzioni per l'uso		Produttore		