

SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM



Test rapido immunocromatografico
per uso diagnostico *in vitro*



BILZ Ab ICT20 : 20 test

ISTRUZIONI PER L'USO

Destinazione d'uso

SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM è un test rapido basato sulla tecnologia immunocromatografia (lateral-flow), permettendo la rilevazione simultanea di entrambe le classi IgG e IgM anti-Schistosoma in sieri umani

Principio del test

SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM è un test singolo per una diagnosi qualitativa. Si basa sul principio del sandwich omogeneo (reazione immunologica di due stessi epitopi antigenici con i due siti di legame di un anticorpo bivalente).

All'interno della cassetta, il dispositivo è composto da:

- una striscia di nitrocellulosa sul quale sono posizionate due bande reattive: gli antigeni (adulti Schistosoma mansoni) della banda "test" (banda T) e le gammaglobuline di coniglio della banda "controllo"(banda C),
- un supporto in fibra di vetro (tampone coniugato), che è impregnato di particelle rosse di lattice coniugato con antigeni di S. mansoni ("test" in lattice = T lattice) e particelle di lattice blu coniugato con IgG di capra anti-coniglio ("controllo" lattice = C lattice) .

Il test viene eseguito dispensando successivamente il campione di siero e una soluzione eluente (chiamato eluente) nel "pozzetto campione" della cassetta. L'aggiunta dell'eluente avvia la contestuale migrazione (cromatografia) del siero e le particelle di lattice. Questa migrazione è completata in 20-30 minuti.

Se gli anticorpi anti-Schistosoma (IgG e / o IgM) sono presenti nel campione, si forma un complesso tra il lattice T e gli anticorpi del paziente che viene poi catturato dalla banda T. Se il risultato è la presenza di una linea rossa: il test è positivo.

La cattura diretta del lattice C sulla banda C si evidenzia nella comparsa di una linea blu, significa che la cromatografia è eseguita bene. L'aspetto di questa linea blu è sistematico e indipendente dallo stato sierologico del paziente.

Entrambe le lettere "T" e "C" sono stampate sul telaio di plastica della cassetta, indicando la posizione dell'area di lettura corrispondente.

Componenti del kit (20 TEST)

- 20 test pronto all'uso: 2 sacchetti (sigillati + zip di chiusura) di 10 dispositivi incluso un pacchetto di essiccante,
- 1 x 2 ml di eluente (flacone contagocce),
- 1 istruzioni per l'uso manuale

Stoccaggio e stabilità

- **Conservare la sacca originale sigillata tra 2 e 8 ° C.** Le cassette possono essere utilizzati fino alla data di scadenza scritta sull'etichetta. Non congelare. Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- **La prima apertura di un sacchetto di 10 test deve avvenire almeno 15 minuti dopo aver messo il sacchetto a temperatura ambiente, al fine di evitare la condensa.**
- **Dopo la prima apertura di un sacchetto, mantenerlo a temperatura ambiente (18-30 ° C), accuratamente chiuso (zip di chiusura) con l'essiccante all'interno.** Dopo l'apertura, le cassette possono essere utilizzate **per un massimo di due mesi.**

Precauzioni d'uso

Sicurezza

- solo per utilizzo *in vitro*. Utilizzare secondo le buone pratiche di laboratorio e considerare qualsiasi reagente e ogni campione come potenzialmente tossici e / o infettivi.
- Solo per uso professionale.
- Tutti i campioni di siero devono essere considerati come potenzialmente infettivi e maneggiati con cura.
- Indossare un camice da laboratorio, guanti e occhiali; non bere, mangiare o fumare in laboratorio. Non pipettare a bocca.
- Smaltire i rifiuti (campioni, puntali, provette, cassette, reagente utilizzato ...) secondo le buone pratiche utilizzate nel settore e norme vigenti nel paese.

Precauzioni

- Non utilizzare eluente di un altro numero di lotto.
- Non usare le cassette di lotti diversi nella stessa seduta.

- Chiudere i flaconi dopo l'uso; non utilizzare se una sostanza è stata accidentalmente introdotta nei reagenti. Non utilizzare il reagente da una fiala che presenta segni di perdite. Non usare la soluzione torbida o con precipitato.
- Usare solo puntali monouso. Evitare qualsiasi contaminazione inter-cassetta.
- Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.
- L'omissione di un campione o la distribuzione di un volume insufficiente può rendere il risultato positivo o negativo, a prescindere dal suo stato sierologico.
- Utilizzare solo cassette accuratamente conservate nella loro borsa chiusa, con il pacchetto essiccante all'interno.

Raccolta e preparazione del siero

Il test può essere effettuato sia con siero o plasma eparinizzato.

La raccolta del campione deve essere sterile e può essere effettuato sia su provetta senza anticoagulante o con eparina (non utilizzare campioni di plasma da citrato o EDTA).

Su tubi con il gel, non raccogliere gel: potrebbe causare falsi positivi.

Evitare emolisi quanto possibile.

Conservare i campioni a 2-8 ° C fino a quando non vengono analizzati. Se devono essere conservati, congelare i campioni a -20 ± 5 ° C. Non utilizzare un campione contaminato.

Evitare congelamento e scongelamento dei campioni più volte.

Procedura del test

Materiale aggiuntivo richiesto: micropipetta e puntali monouso per dispensare volumi di 30µL, timer.

Se i sacchetti di 10 test sono conservati a 2-8 ° C, tenere almeno 15 minuti a temperatura ambiente prima dell'apertura: la temperatura del sacchetto deve raggiungere la temperatura ambiente per evitare la formazione di condensa.

1. Estrarre il numero desiderato di cassette, quindi chiudere accuratamente il sacchetto con la chiusura a zip (con il pacchetto essiccante all'interno) mentre si estrae quanta più aria possibile. **Conservare il sacchetto a temperatura ambiente per 2 mesi.** L'eluente può essere conservato a temperatura ambiente fino alla data di scadenza.
2. **Identificare ogni cassetta** con il riferimento di ciascun campione da testare. Non effettuare sedute lavorative con più di 10 cassette. Due prove successive di 10 cassette devono essere effettuate dopo pochi minuti al fine di poter effettuare la lettura ai tempi consigliati (uso di 2 temporizzatori).
3. Utilizzare una micropipetta con una punta monouso per dispensare 30µL di siero o plasma nel pozzetto. Farlo per tutte le cassette prima di passare alla fase successiva.
4. Dispensare **3 gocce** di eluente del kit. **Non utilizzare il liquido di eluizione di un altro numero di lotto.** Tenere il contagocce in posizione verticale durante l'erogazione. Chiudere il contagocce dopo l'uso.
5. Avviare il timer quando l'eluente viene distribuito in tutte le cassette della seduta.

Letture e interpretazione

La lettura deve essere fatta vicino ad una finestra o sotto la luce diretta (cioè una lampada da tavolo). Evitare ombre sulla zona di lettura.

La lettura deve essere effettuata tra 20 e 30 minuti dopo l'inizio del timer.

Non tener conto dei risultati di letture dopo 30 minuti.

- **Test positivo:** 2 linee, una rossa "T" e una blu "C" compaiono nelle aree corrispondenti. Ogni linea "T" deve essere considerata positiva, anche di intensità molto debole. Per le linee molto deboli, effettuare la lettura con l'occhio verticalmente sopra l'area di lettura.
- **Test Equivoco:** la presenza di un'ombra grigia nella zona di prova, il più delle volte tra i 20 e 30 minuti, è un risultato equivoco. La linea blu deve apparire normalmente. Il campione è considerato negativo. In questo caso, tuttavia, è meglio controllare il risultato con un'altra tecnica o su un campione diverso.
- **Test negativo:** Non appare la linea rossa. Solo la linea blu "C" è visibile.
- **Test non valido:** non appare la linea "C". Leggere ancora una volta le istruzioni e ripetere il test. Se il problema persiste, contattare il produttore o il distributore.

Note: Questo è un test qualitativo. L'intensità della linea rossa non riflette la quantità di anticorpi anti-Schistosoma nel campione.

Tuttavia, il grado di comparsa della linea rossa sembra correlato alla quantità di anticorpi e potrebbe dare un'idea del titolo anticorpale.

La positività del test è la prova del contatto del paziente con Schistosoma ma non indica la data del contatto o lo stato clinico del paziente.

Controllo qualità

La linea blu "C" permette la validazione del buon funzionamento del test. Tuttavia si raccomanda di inserire in ogni seduta un campione debole positivo noto.

Limitazioni del test

- Non usare un campione di siero troppo vecchio con questa tecnica. Si raccomanda di utilizzare campioni congelati da meno di 2 anni.
- La positività può essere causata dalla presenza di IgG e / o IgM contro Schistosoma, e il test si basa sul principio di agglutinazione.
- Non utilizzare i campioni di plasma da citrate o EDTA.
- L'uso di altri fluidi corporei (urina, liquor, saliva, sangue intero ...) non è stato convalidato.
- L'uso di campioni emolitici, itterici o lipidici non è raccomandato. Tuttavia, non è stata registrata alcuna interferenza nella reazione. Inoltre, i campioni molto emolitici possono nascondere un test debole positivo, a causa di un forte fondo rosso da emolisi.
- Non erogare 2 o 4 gocce di eluente.
- L'interpretazione dei risultati deve essere effettuata all'interno del contesto clinico.
- **Utilizzare l'eluente esclusivamente con le cassette della stessa confezione (stesso numero di lotto)**

Prestazioni

❖ Sensibilità (Se)

La valutazione retrospettiva effettuata su 354 campioni.

- 166 campioni da pazienti infetti da *S. haematobium* e *S. mansoni* (approssimativa 1: 1 ratio) sono stati clinicamente documentati (uova, biopsia, caratteristiche cliniche ...).

Samples nature	Positive ICT	Negative ICT	Se %
Clinical Schistosomiasis (n=166)	164	2	98.8

Fig. 1: La sensibilità di *Schistosoma* ICT IgG-IgM su campioni provenienti da casi clinici di schistosomiasi.

I 2 risultati ICT negativi erano anche negativi nell' immunoblot di riferimento Schisto II WB IgG.

- 43 campioni sono stati ottenuti dalla recente epidemia in Corsica (ibridazione di *S. haematobium* di *S. bovis*) [2, 5, 6, 7].
- 145 campioni sono campioni diagnostici di routine che evidenziavano i risultati positivi o dubbi in uno o più test di screening (HIA, IFA, ELISA).

Samples nature	Positive ICT	Negative ICT	Se %
Corsica epidemic: positive samples (n=43)	39	4	90.7
Serological schistosomiasis (n=145)	136	9	93.8
Total (n=188)	175	13	93.1

Fig. 2: La sensibilità di *SCHISTOSOMA* ICT IgG-IgM su campioni sierologici di schistosomiasi.

I 188 campioni sono stati confermati positivi sull' immunoblot di riferimento *SCHISTO II WB* IgG.

Sensibilità globale di *SCHISTOSOMA* ICT IgG-IgM sui 354 campioni: SE = 95.8%

❖ Specificità (Sp)

Valutazione effettuata su 275 campioni, compresi 53 donatori di sangue, 181 sieri di pazienti affetti dalle seguenti infezioni parassitarie: *Echinococcus granulosus* (14), *E. multilocularis* (8), malaria (26), filariasis (7), *Stongiloïdes stercoralis* (8), *Fasciola hepatica* (8), *Trichinella spiralis*

(9), *Toxocara canis* (26), cysticercosis (45), *Leishmania infantum* (30) e 41 sieri di pazienti affetti da malattie autoimmuni: fattore reumatoide RF + (20), anticorpi anti-nucleo ANA + (21).

Samples nature	Negative ICT	Positive ICT	Sp %
blood donor (n=53)	53	0	100.0
cystic echinococcosis (n=14)	11	3	72.7
alveolar echinococcosis (n=8)	8	0	100.0
malaria (n=26)	24	2	91.7
filariasis (n=7)	7	0	100.0
anguillulosis (n=8)	7	1	85.7
fasciolasis (n=8)	7	1	85.7
trichinellosis (n=9)	9	0	100.0
Toxocariasis (n=26)	26	0	100.0
cysticercosis (n=45)	35	10	71.4
leishmaniasis (n=30)	27	3	88.9
Rhumatoid Factor (n=20)	20	0	100.0
Anti Nuclear Antibodies (n=21)	20	1	95.0
Total (n=275)	254	21	92.4

Fig. 3: specificità comparata di SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM su campioni prelevati da donatori di sangue e di pazienti affetti da infezioni parassitarie o malattie autoimmuni. I 275 campioni sono risultati negativi sull' Immunoblot di riferimento SCHISTOII WB IgG.

Due infezioni da elminti, echinococcosi cistica e cisticercosi, stanno dando reazioni crociate con SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM : Ciò evidenzia l'interesse della immunoblot nell'effettuare la conferma della diagnosi sierologica.

❖ Riproducibilità

Riproducibilità inter-serie e inter-lotto sono stati effettuate. In entrambi i casi, la correlazione siero-siero è eccellente.

❖ Interferenze

Anche se nessuna particolare cross-reazione è stata osservata con sieri emolizzati, itterici o lipidica, si raccomanda di interpretare i risultati di tali campioni con cura.

Bibliography

1. Bevilacqua, Nazario, Stefania Pane, Francesco Vairo, Emanuele Nicastrì, Maria G. Paglia, Shaali M. Ame, Monica Sañé Schepisi, et al. 2012. « Accuracy of Indirect Haemagglutination and Western Blot Assays for the Detection of Anti-Schistosoma Antibodies in Non-Severe Febrile Patients in Two Tanzanian Hospitals ». *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 44 (6): 453-58. doi:10.3109/00365548.2011.645505.
2. Brunet, Julie, Alexander W. Pfaff, Yves Hansmann, Guillaume Gregorowicz, Bernard Pesson, Ahmed Abou-Bacar, et Ermanno Candolfi. 2015. « An Unusual Case of Hematuria in a French Family Returning from Corsica ». *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases* 31 (février): 59-60. doi:10.1016/j.ijid.2014.10.024.
3. Cavalcanti, Marta G., Leonardo F. Silva, Regina H.S. Peralta, Magali G.M. Barreto, et José M. Peralta. 2013. « Schistosomiasis in Areas of Low Endemicity: A New Era in Diagnosis ». *Trends in Parasitology* 29 (2): 75-82. doi:10.1016/j.pt.2012.11.003.
4. Colley, Daniel G., Amaya L. Bustinduy, W. Evan Secor, et Charles H. King. 2014. « Human Schistosomiasis ». *Lancet* 383 (9936): 2253-64. doi:10.1016/S0140-6736(13)61949-2.
5. De Laval, Franck, Hélène Savini, Elodie Biance-Valero, et Fabrice Simon. 2014. « Human Schistosomiasis: An Emerging Threat for Europe ». *The Lancet* 384 (9948): 1094-95. doi:10.1016/S0140-6736(14)61669-X.
6. Holtfreter, M. C., H. Moné, I. Müller-Stöver, G. Mouahid, et J. Richter. 2014. « Schistosoma Haematobium Infections Acquired in Corsica, France, August 2013 ». *Euro Surveillence: Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 19 (22).
7. Moné, Hélène, Martha C. Holtfreter, Jean-François Allienne, Rodrigue Mintsanguéma, Moudachirou Ibikounlé, Jérôme Boissier, Antoine Berry, Guillaume Mitta, Joachim Richter, et Gabriel Mouahid. August 2015. « Introgressive Hybridizations of Schistosoma Haematobium by Schistosoma Bovis at the Origin of the First Case Report of Schistosomiasis in Corsica (France, Europe) ». *Parasitology Research*. doi:10.1007/s00436-015-4643-4.
8. Noormahomed, Emilia Virginia, Noémia Nhacupe, Carmen Mascaró-Lazcano, Manuel Natane Mauaie, Titos Buene, Carlos Abel Funzamo, et Constance Ann Benson. 2014. « A Cross-Sectional Serological Study of Cysticercosis, Schistosomiasis, Toxocariasis and Echinococcosis in HIV-1 Infected People in Beira, Mozambique ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (9): e3121. doi:10.1371/journal.pntd.0003121.
9. « Rapid risk assessment: Local transmission of Schistosoma haematobium in Corsica, France ». 2014. Stockholm: ECDC; 2014: European Centre for Disease Prevention and Control. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/schistosoma-haematobium-risk-assessment-France-Germany.pdf>.

10. Sulahian, Annie, Yves Jean François Garin, Arezki Izri, Caroline Verret, Pascal Delaunay, Tom van Gool, et Francis Derouin. 2005. « Development and evaluation of a Western blot kit for diagnosis of schistosomiasis ». *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 12 (4): 548-51. doi:10.1128/CDLI.12.4.548-551.2005.
11. Wang, Wei, Li Wang, et You-Sheng Liang. 2012. « Susceptibility or Resistance of Praziquantel in Human Schistosomiasis: A Review ». *Parasitology Research* 111 (5): 1871-77. doi:10.1007/s00436-012-3151-z.