

NADAL® Chikungunya IgM Test (test cassette)

REF 682002N-20



DE	Gebrauchsanweisung	2	Symbols	16
EN	Instructions for use	5	Our Teams	16
ES	Instrucciones de uso	8		
IT	Istruzioni per l'uso	11		

1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Chikungunya IgM Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum qualitativen Nachweis von anti-Chikungunya-Virus-IgM in humanem Serum, Plasma oder Vollblut. Er ist für den Gebrauch als Screening Test und als Hilfsmittel bei der Diagnose einer Chikungunya-Infektion bestimmt. Dieser Test liefert nur ein vorläufiges Testergebnis. Daher sollten weitere Referenztests, wie z.B. ELISA oder PCR, verwendet werden, um Chikungunya-Infektionen zu bestätigen.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Das Chikungunya-Virus (CHIKV) ist ein behülltes, positivsträngiges RNA-Virus, das zusammen mit der Gattung *Alphavirus* der Familie *Togaviridae* angehört und erstmals 1953 identifiziert wurde.

Chikungunya- (CHIK-) Fieber wird durch den Biss verschiedener Mücken, einschließlich *Ae. aegypti*, *Ae. africanus*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. furcifer* und *Ae. Taylori*, aber vor allem der Asiatischen Tigermücke (*Ae. albopictus*) auf Menschen übertragen. CHIKV hat Ausbrüche in Ostafrika (Tansania und Uganda), im südlichen Afrika (Simbabwe und Südafrika), in Westafrika (Senegal und Nigeria) und in Zentralafrika (der Zentralafrikanischen Republik und der Demokratischen Republik Kongo) verursacht. In Asien wurden CHIK-Ausbrüche in Indien, Sri Lanka, Myanmar, Thailand, Indonesien, Kambodscha, Vietnam, Hongkong, Malaysia und auf den Philippinen gemeldet. Die Symptome einschließlich plötzliches Einsetzen von Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Gelenkschmerzen mit oder ohne Schwellungen, Schmerzen im unteren Rücken und Hautausschlag ähneln denen von Dengue-Fieber. Beide Krankheiten werden hauptsächlich durch die gleichen Mückenarten *Ae. aegypti* und *Ae. albopictus* übertragen. Es wurden gemischte Ausbrüche von Chikungunya mit sporadischen Fällen von Dengue in Andhra Pradesh, Indien gemeldet. Doch im Gegensatz zum Dengue-Fieber gibt es keine Form des hämorrhagischen oder Schock-Syndroms. Daher ist die Möglichkeit CHIKV-Infektionen von Denguevirus-Infektionen zu unterscheiden sehr vorteilhaft, vor allem in Gebieten, in denen Denguevirus-Infektionen endemisch oder epidemisch vorkommen. Der NADAL® Chikungunya IgM Test verwendet rekombinante Antigene, die in Strukturproteinen vorkommen. Er weist anti-CHIKV-IgM in Serum-, Plasma- oder Vollblutproben nach 15 Minuten nach. Der Test kann durch ungeschultes oder minimal ausgebildetes Personal ohne umständliche Laborausrüstung durchgeführt werden.

3. Testprinzip

Der NADAL® Chikungunya IgM Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format. Die Testkassette besteht aus: 1) einem burgunderroten Konjugat-Pad, das mit kolloidalem Gold konjugierte CHIKV-Antigene (CHIKV-Konjugate) und Kaninchen-IgG-Goldkonjugate enthält, 2) einem Membranstreifen aus Nitrocellulose, der einen Testlinienbereich (T) und einen Kontrolllinienbereich (C) enthält. Anti-human-IgM sind im Testlinienbereich (T) und Ziege-anti-Kaninchen-IgG sind im Kontrolllinienbereich (C) vorbeschichtet.

Wenn ein ausreichendes Probenvolumen in die Probenvertiefung (S) der Testkassette gegeben wird, wandert die Probe durch Kapillarkraft die Membran entlang. Wenn IgM gegen CHIKV in der Probe vorhanden sind, binden sie währenddessen die CHIKV-Konjugate. Der Immunkomplex wird dann auf der Membran durch vorbeschichtete anti-human-IgM abgefangen und dadurch entsteht eine burgunderrote Testlinie (T), die auf ein CHIKV-IgM-positives Testergebnis hindeutet. Die Abwesenheit der Testlinie (T) weist auf ein negatives Ergebnis hin.

Der Test enthält eine interne Kontrolle (C-Linie), die eine burgunderrote Linie der Immunkomplexe von Ziege-anti-Kaninchen-IgG/Kaninchen-IgG-Goldkonjugat unabhängig von der Anwesenheit der Testlinie (T) aufweisen sollte. Andernfalls ist das Testergebnis ungültig und die Probe sollte mit einer anderen Testkassette erneut getestet werden.

4. Bestandteile der Testpackung

- 20 NADAL® Chikungunya IgM Testkassetten (inkl. Einwegpipetten)
- 1 Puffer "Buffer"
- 1 Gebrauchseinweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter
- Lanzetten (nur für Vollblutproben aus Fingerpunktion)
- Zentrifuge (für Serum/Plasma)
- Heparinisierte Kapillarrohrchen mit Hütchen (nur für Vollblutproben aus Fingerpunktion)

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Alle Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert. Lagern Sie unbenutzte Testkassetten bei 2-30°C ungeöffnet. Wenn Testkassetten bei 2-8°C gelagert werden, stellen Sie sicher, dass sie vor dem Öffnen auf Raumtemperatur gebracht sind. Testkassetten sind bis zum auf dem Folienbeutel aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Frieren Sie das Test-Kit nicht ein und setzen Sie es nicht Temperaturen über 30°C aus.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probensammelbehälter verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.

- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probenahme, -vorbereitung und -lagerung

Der NADAL® Chikungunya IgM Test kann mit Vollblut (aus Venen- oder Fingerpunktion), Serum oder Plasma durchgeführt werden.

Vollblutprobenentnahme aus Fingerpunktion

- Waschen Sie die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser oder säubern Sie sie mit einem Alkoholtupfer. Lassen Sie sie trocknen.
- Massieren Sie die Hand ohne dabei die Einstichstelle zu berühren, indem Sie die Hand abwärts in Richtung der Kuppe des Mittel- oder Ringfingers reiben.
- Stechen Sie die Haut mit einer sterilen Lanzette. Wischen Sie den ersten Blutstropfen ab.
- Reiben Sie vorsichtig die Hand vom Handgelenk zur Handfläche und zum Finger, damit sich auf dem Einstichpunkt ein runder Tropfen bildet.

Trennen Sie Serum oder Plasma so schnell wie möglich vom Blut, um eine Hämolyse zu vermeiden. Verwenden Sie nur klare, nicht hämolytierte Proben.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum auf. Serum- und Plasmaproben können bei 2-8°C bis zu 3 Tage gelagert werden. Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei -20°C gelagert werden. Venöses Vollblut sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden, wenn der Test innerhalb von 2 Tagen nach Probenentnahme durchgeführt wird. Frieren Sie die Vollblutproben nicht ein. Vollblutproben aus Fingerpunktion sollten unverzüglich getestet werden. Bringen Sie Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur. Eingefrorene Proben sollten vor Testdurchführung vollständig aufgetaut und gut gemischt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden. Wenn Proben versendet werden sollen, sollten diese gemäß lokaler Verordnungen für ätiologische Mittel verpackt werden.

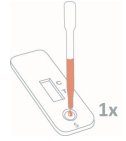
9. Testdurchführung

Bringen Sie alle Tests, Proben, Puffer und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

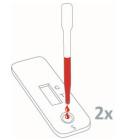
1. Entnehmen Sie die Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und benutzen Sie sie so schnell wie möglich. Die besten Ergebnisse werden erhalten, wenn der Test innerhalb von einer Stunde durchgeführt wird.

2. Legen Sie die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche.

3. **a) Für Serum- oder Plasmaproben:**
Halten Sie die Pipette senkrecht und geben Sie 1 Tropfen (ca. 30 µL) Serum oder Plasma in die Probenvertiefung (S) der Testkassette.



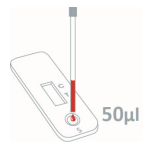
- b) Für Vollblutproben aus Venenpunktion:**
Halten Sie die Pipette senkrecht und geben Sie 2 Tropfen (ca. 50 µL) Vollblut aus Venenpunktion in die Probenvertiefung (S) der Testkassette.



- c) Für Vollblutproben aus Fingerpunktion:**

I. Mittels Kapillarröhrchen

Entnehmen Sie mit dem Kapillarröhrchen eine Blutprobe bis sich das Kapillarröhrchen etwa mit ca. 50 µL Blut gefüllt hat. Vermeiden Sie Luftblasen. Stülpen Sie das Hütchen über das obere Ende des Kapillarröhrchens und drücken Sie es, um die Vollblutprobe in die Probenvertiefung (S) der Testkassette zu geben.



II. Mittels hängender Tropfen

Positionieren Sie den Finger des Patienten so, dass der Blutropfen genau über der Probenvertiefung (S) der Testkassette ist. Lassen Sie 2 hängende Tropfen (ca. 50 µL) Vollblut aus Fingerpunktion in die Probenvertiefung (S) der Testkassette fallen oder bewegen Sie den Finger des Patienten so, dass der hängende Tropfen die Probenvertiefung (S) berührt. Vermeiden Sie dabei, dass der Finger die Probenvertiefung (S) direkt berührt.



4. Geben Sie 1 Tropfen (ca. 40 µL) Puffer in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Starten Sie den Timer.
5. Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Ergebnis nach 15 Minuten aus. Nach mehr als 15 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

Positiv

Zwei farbige Linien erscheinen auf der Membran. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T). Das Testergebnis weist auf die Anwesenheit von anti-CHIKV-IgM in der Probe hin.



Hinweis: Vor der Stellung einer positiven Diagnose sollten die Proben mit positiven Ergebnissen mit (einer) alternativen Testmethode(n) und klinischen Befunden bestätigt werden.

Negativ

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C). Im Testlinienbereich (T) erscheint keine farbige Linie. Das Testergebnis deutet darauf hin, dass keine nachweisbaren anti-CHIKV-IgM in der Probe vorhanden sind.

**Ungültig**

Die Kontrolllinie erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.

Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit ihrem Distributor in Verbindung.



Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die *Gute Laborpraxis (GLP)* empfiehlt den Einsatz von Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Chikungunya IgM Test weist das Vorhandensein von IgM gegen das Chikungunya-Virus in der Probe nach und sollte nicht als einziges Kriterium für die Diagnose von Chikungunya verwendet werden.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollte eine endgültige klinische Diagnose nicht auf dem Ergebnis eines einzelnen Tests beruhen, sondern vom Arzt nach der Auswertung aller klinischen und labortechnischen Befunde gestellt werden.
- Wenn das Testergebnis negativ ausfällt, klinische Symptome jedoch weiter anhalten, empfiehlt es sich eine Nachtestung unter Verwendung anderer klinischer Methoden durchzuführen. Negative Ergebnisse schließen eine mögliche Chikungunya-Infektion nicht aus.

13. Leistungsmerkmale des Tests

127 positive Proben und 296 negative Proben wurden mit dem NADAL® Chikungunya IgM Test und einem kommerziell erhältlichen CHIKV-IgM capture ELISA getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

		CHIKV-IgM capture ELISA		
		+	-	Total
NADAL® Chikungunya IgM Test	+	123	4	127
	-	4	292	296
	Total	127	296	423

Relative Sensitivität: 96,9%

Relative Spezifität: 98,6%

Gesamtübereinstimmung: 98,1%

14. Referenzen

1. 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.
2. 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
3. Myers RM and Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. *Science* 1967;157:1307-8.
4. 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 mmunoglobulin 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.

Rev. 0, 2015-11-16 OM/UJA

1. Intended Use

The NADAL® Chikungunya IgM Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the qualitative detection of anti-chikungunya virus IgM in human serum, plasma or whole blood. It is intended for use as a screening test and as an aid in the diagnosis of chikungunya infection. This test provides only a preliminary test result. Therefore, further reference tests, such as ELISA or PCR, should be used to confirm Chikungunya infection.

2. Introduction and Clinical Significance

The Chikungunya virus (CHIKV) is an enveloped, positive-strand, RNA virus belonging to the family *Togaviridae* together with the genus *Alphavirus*, first identified in 1953. Chikungunya (CHIK) fever is transmitted to humans by the bite of a variety of mosquitoes including *Ae. aegypti*, *Ae. africanus*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. furcifer* and *Ae. Taylori*, but mainly by that of the Asian tiger mosquito (*Ae. albopictus*). CHIKV has caused outbreaks in East Africa (Tanzania and Uganda), in Austral Africa (Zimbabwe and South Africa), in West Africa (Senegal and Nigeria) and in Central Africa (Central African Republic and Democratic Republic of the Congo).

In Asia, CHIK outbreaks have been reported in India, Sri Lanka, Myanmar, Thailand, Indonesia, the Philippines, Cambodia, Vietnam, Hong Kong and Malaysia. The symptoms including sudden onset of fever, chills, headache, nausea, vomiting, joint pain with or without swelling, low back pain and rash are very similar to those of dengue. Both diseases are primarily transmitted by the same species of mosquitos - *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. Mixed outbreaks of chikungunya with sporadic cases of dengue have been reported in Andhra Pradesh state, India. However, unlike dengue, there is no hemorrhagic or shock syndrome form. Therefore, the possibility of distinguishing between CHIKV infection and dengue virus infection is extremely beneficial, particularly in areas where dengue virus infection is endemic or epidemic. The NADAL® Chikungunya IgM Test utilises recombinant antigens which are found in structure proteins. It detects anti-CHIKV IgM in serum, plasma or whole blood samples after 15 minutes. The test can be performed by untrained or minimally skilled personnel and without cumbersome laboratory equipment.

3. Test Principle

The NADAL® Chikungunya IgM Test is a lateral flow chromatographic immunoassay. The test cassette consists of: 1) a burgundy conjugate pad containing CHIKV antigens conjugated to colloidal gold (CHIKV conjugates) and rabbit IgG-gold conjugates, 2) a nitrocellulose membrane strip containing a test line region (T) and a control line region (C). Anti-human IgM are pre-coated in the test line region (T), and goat anti-rabbit IgG are pre-coated in the control line region (C).

When an adequate volume of specimen is dispensed into the sample well (S) of the test cassette, it migrates by capillary action along the membrane. If IgM against CHIKV are present in the specimen, they bind to the CHIKV conjugates. The immunocomplex is then captured on the membrane by the pre-coated anti-human IgM, forming a burgundy test line (T), indicating a CHIKV IgM positive test result.

The absence of the test line (T) suggests a negative result.

The test contains an internal control (C line) which should exhibit a burgundy line of the immunocomplexes of goat anti-rabbit IgG/rabbit IgG-gold conjugate regardless of the the presence of the test line (T). Otherwise, the test result is invalid and the specimen should be retested with another test cassette.

4. Reagents and Materials Supplied

- 20 NADAL® Chikungunya IgM test cassettes (incl. disposable pipettes)
- 1 Buffer
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Specimen collection containers
- Lancets (for fingerstick whole blood only)
- Centrifuge (for serum/plasma)
- Heparinised capillary tubes and dispensing bulb (for fingerstick whole blood only)

6. Storage & Stability

All reagents are ready to use as supplied. Store unused test cassettes unopened at 2-30°C. If test cassettes are stored at 2-8°C, ensure that they brought to room temperature before opening. Test cassettes are stable until the expiration date printed on the foil pouch. Do not freeze the test kit or expose it to temperatures over 30°C.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection container for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Humidity and temperature can adversely affect test results.

- Used testing materials should be discarded according to local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

The NADAL® Chikungunya IgM Test can be performed using whole blood (from venipuncture or fingerstick), serum or plasma.

To collect fingerstick whole blood specimens:

- Wash the patient's hand with soap and warm water or clean with an alcohol swab. Allow it to dry.
- Massage the hand without touching the puncture site by rubbing down the hand towards the fingertip of the middle or ring finger.
- Puncture the skin with a new sterile lancet for each person. Wipe away the first drop of blood.
- Gently rub the hand from wrist to palm and then to finger to form a rounded drop of blood over the puncture site.

Separate serum or plasma from blood as soon as possible to avoid hemolysis. Use only clear, non-hemolysed specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave the specimens at room temperature for prolonged periods of time. Serum and plasma specimens can be stored at 2-8°C for up to 3 days. For long term storage, specimens should be kept below -20°C. Whole blood collected by venipuncture should be stored at 2-8°C if the test is to be run within 2 days of collection. Do not freeze whole blood specimens. Fingerstick whole blood should be tested immediately. Bring specimens to room temperature prior to testing. Frozen specimens must be completely thawed and mixed well prior to testing. Specimens should not be frozen and thawed repeatedly. If specimens are to be shipped, they should be packed in compliance with local regulations for the transportation of etiologic agents.

9. Test Procedure

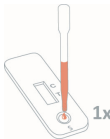
Bring tests, specimens, buffer and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

- Remove the test cassette from the sealed foil pouch and use it as soon as possible. Best results will be obtained if the assay is performed within one hour.

- Place the test cassette on a clean and level surface.

a) For serum or plasma specimen:

Holding the dropper vertically, add 1 drop (approximately 30 µL) of serum or plasma to the specimen well (S) of the test cassette.



b) For venipuncture whole blood specimen:

Holding the dropper vertically, add 2 drops (approximately 50 µL) of venipuncture whole blood to the specimen well (S) of the test cassette.



c) For fingerstick whole blood specimen:

I. To use a capillary tube:

Apply the end of the capillary tube to the blood until it is filled with approximately 50 µL. Avoid air

bubbles. Place the bulb onto the top end of the capillary tube, squeeze the bulb to dispense the whole blood specimen into the specimen well (S) of the test cassette.



II. To use hanging drops:

Position the patient's finger so that the drop of blood is exactly above the specimen well (S) of the test cassette. Allow 2 hanging drops (approximately 50 µL) of fingerstick whole blood to fall into the center of the specimen well (S) of the test cassette or move the patient's finger so that the hanging drop touches the center of the specimen well (S). Avoid touching the finger directly to the specimen well (S).



- Add 1 drop (approximately 40 µL) of buffer to the sample well (S). Start the timer.



- Wait for the coloured line(s) to appear. The result should be read after 15 minutes. Do not interpret the result after more than 15 minutes.



10. Result Interpretation

Positive

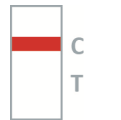
Two coloured lines appear on the membrane. One line appears in the control line region (C) and the other line appears in the test line region (T). The test result indicates the presence of anti-CHIKV IgM in the specimen.



Note: Samples with positive results should be confirmed with alternative testing method(s) and clinical findings before a positive determination is made.

Negative

One coloured line appears in the control line region (C). No coloured line appears in the test line region (T). The test result indicates that no detectable anti-CHIKV IgM are present in the specimen.



Invalid

The control line fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your local distributor.



Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for the control line failure.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® Chikungunya IgM Test detects the presence of IgM antibodies to Chikungunya virus in the specimen and should not be used as the sole criterion for the diagnosis of Chikungunya.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the result of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
- If the test result is negative but clinical symptoms persist, additional follow-up testing using other clinical methods is recommended. Negative results do not preclude the possibility of Chikungunya infection.

13. Performance Characteristics

127 positive samples and 296 negative samples were tested using the NADAL® Chikungunya IgM Test and a commercially available CHIKV IgM capture ELISA.

The results are summarised in the following table.

		CHIKV IgM capture ELISA		
		+	-	Total
NADAL® Chikungunya IgM Test	+	123	4	127
	-	4	292	296
	Total	127	296	423

Relative sensitivity: 96.9%

Relative specificity: 98.6%

Overall agreement: 98.1%

14. References

1. 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.
2. 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
3. Myers RM and Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. *Science* 1967;157:1307-8.
4. 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.

Rev. 0, 2015-11-16 OM/UJa

1. Uso previsto

El test NADAL® Chikungunya IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de IgM anti-Chikungunya en muestras humanas de suero, plasma o sangre completa. Está diseñado para su uso como test de detección y para ayudar en el diagnóstico de una infección por Chikungunya. El resultado de este test tiene solo un carácter preliminar. Por esta razón, se deben utilizar otros test de referencia, como ELISA o PCR, para confirmar una infección por Chikungunya.

2. Introducción y significado clínico

El Chikungunya (CHIKV) es un virus ARN monocatenario positivo que pertenece, junto con el *Alphavirus*, a la familia *Tagaviridae* y que fue identificado por primera vez en 1953. La fiebre de chikungunya (CHIK) se transmite a las personas por medio de la picadura de varios tipos de mosquitos, como los *Ae. aegypti*, *Ae. africanus*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. furcifer* y *Ae. Taylori*, pero sobre todo, por la picadura del mosquito tigre asiático (*Ae. albopictus*). La CHIKV ha causado brotes en áreas del continente africano, como el este (Tanzania y Uganda), la zona austral (Zimbaue y Sudáfrica), el oeste (Senegal y Nigeria) y el área central (República Centroafricana y República Democrática del Congo).

En Asia, se han registrado brotes de Chikungunya en la India, Sri Lanka, Myamar, Tailandia, Indonesia, las Filipinas, Camboya, Vietnam, Hong Kong y Malasia. Los síntomas incluyen la aparición repentina de fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, dolor en las articulaciones, con o sin inflamación, dolor lumbar y erupción similar a la del dengue. Ambas enfermedades se transmiten principalmente por la misma especie de mosquitos - *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. Se han registrado brotes mixtos de chikungunya con casos esporádicos de dengue en el estado de Andhra Pradesh, India. Sin embargo, a diferencia del dengue, no producen síndromes hemorrágicos o de shock. Por esta razón, es extremadamente beneficioso poder distinguir entre una infección por CHIKV y una por Dengue, particularmente en áreas donde la infección por Dengue es endémica o epidémica. El test NADAL® Chikungunya IgM utiliza antígenos recombinantes que se encuentran en las proteínas estructurales. El test detecta IgM anti-CHIKV en muestras de suero, plasma o sangre completa después de 15 minutos. El ensayo puede ser llevado a cabo por personal sin ningún, o con un mínimo, entrenamiento y sin necesidad de un equipo de laboratorio.

3. Principio del test

El test NADAL® Chikungunya IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El casete de test está compuesto por: 1) una almohadilla de color burdeos con conjugado de antígenos de CHIKV con oro coloidal (conjugados de CHIKV) e IgG de conejo con oro, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa con una región de test (T) y una región de control (C). El IgM anti-humano recubre la región de test (T), y el IgG anti-conejo de cabra recubre la zona de control (C).

Cuando se añade un volumen adecuado de muestra al pocillo correspondiente del casete (S), la muestra migra por acción capilar a lo largo de la membrana. Si en las muestras hay CHIKV presente, se unirán a los conjugados de CHIKV. El

inmunocomplejo queda capturado en la membrana por el IgM anti-humano, formando una línea de test de color burdeos (T), indicando un resultado de test positivo para IgM CHIKV. La ausencia de la línea de test (T) sugiere un resultado negativo.

El test contiene una tira interna de control (C) que debe mostrar una línea de color burdeos del inmunocomplejo IgG anti-conejo de cabra / IgG de conejo conjugado con oro, independientemente de que aparezca o no la línea de test (T). De otro modo, el resultado no sería válido y se tendría que repetir la prueba con otro casete de test.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 casetes de test NADAL® Chikungunya IgM (con pipetas desechables incluidas).
- 1 búfer "Buffer"
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Recipiente para recolectar la muestra
- Lancetas (solo para sangre completa por punción digital)
- Centrifugadora (para suero/plasma)
- Tubos capilares desechables heparinizados y goteros dispensadores (solo para sangre completa obtenida por punción digital).

6. Almacenamiento y conservación

Todos los reactivos están listos para su uso tal como se suministran. Almacene los test cerrados a 2-30°C y asegúrese de llevarlos a temperatura ambiente antes de abrirlos. El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No congele los dispositivos ni los exponga a temperaturas por encima de 30°C.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Utilice ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de

agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).

- La humedad y la temperatura puede afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

El test NADAL® Chikungunya IgM se puede realizar utilizando sangre completa (obtenida por punción venosa o digital), suero o plasma.

Para muestras de sangre completa obtenida por punción digital:

- Lave la mano del paciente con jabón y agua caliente o límpiela con un hisopo con alcohol. Déjela secar.
- Realice un suave masaje en la mano sin tocar el lugar de punción, frotándola en dirección hacia la punta del dedo medio o anular.
- Realice una punción en la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.
- Frote la mano desde la palma hasta el dedo para obtener una gota de sangre en la zona de la punción.

Para evitar la hemólisis, separe el suero o plasma de la sangre por centrifugación lo antes posible. Utilice solo muestras no hemolizadas.

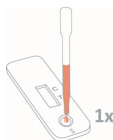
El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados. Las muestras de suero o plasma se pueden almacenar a 2-8°C hasta 3 días. Si desea almacenarlas durante más tiempo, debe congelarlas a -20°C. La sangre completa recolectada por punción venosa se debe almacenar a 2-8°C siempre que el test se realice en los 2 días siguientes a la recolección. No congele las muestras de sangre completa. Si la sangre completa se ha obtenido por punción digital se debe realizar la prueba inmediatamente. Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Si se han congelado las muestras, debe descongelarlas y mezclarlas bien antes de realizar la prueba. Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado. Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones estatutarias para el transporte de agentes etiológicos.

9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, los reactivos y/o controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

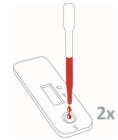
1. Retire el casete de test de su envase y utilícelo lo más pronto posible. Para obtener mejores resultados, realice el ensayo antes de una hora.
2. Coloque el casete de test sobre una superficie limpia y plana.
3. a) **Para muestras de suero o plasma:**

Sujetando el gotero verticalmente, añada 1 gota (aprox. 30 µL) de suero o plasma al pocillo para la muestra del casete de test (S).



b) Para muestras de sangre obtenida por punción venosa:

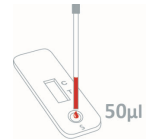
Sujetando el gotero verticalmente, añada 2 gotas (aprox. 50 µL) de suero o plasma al pocillo para la muestra del casete de test (S).



c) Para las muestras de sangre completa obtenida por punción digital:

I. Mediante un tubo capilar:

Coloque el extremo del tubo capilar sobre la muestra de sangre para llenarlo con aproximadamente 50 µL. Evite la formación de burbujas. Coloque el gotero dispensador en el extremo del tubo capilar, y a continuación, apriete el gotero para dispensar la muestra de sangre completa en el pocillo correspondiente (S) del casete de test.

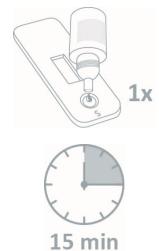


II. Mediante gotas colgantes:

Posicione el dedo del paciente de forma que la gota de sangre caiga exactamente sobre el pocillo para la muestra (S) del casete de test. Deje caer 2 gotas colgantes (aprox. 50 µL) de sangre completa de la punta del dedo en el centro del pocillo para la muestra (S) del casete de test o mueva el dedo del paciente de forma que la gota colgante toque el centro del pocillo (S). Evite tocar directamente con el dedo el pocillo para la muestra (S).



4. Añada 1 gota de búfer (aprox. 40 µL) al pocillo para la muestra (S). Active el cronómetro.
5. Espere a que aparezca la línea/s coloreada/s. Lea el resultado del test a los 15 minutos. No interprete los resultados después de 15 minutos.



10. Interpretación del resultado

Positivo

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana. Una de ellas aparece en el área de control (C) y la otra en el área de test (T). El resultado indica la presencia de IgM anti-CHIKV en la muestra.



Nota: los resultados positivos se deben confirmar con otros métodos de test y considerando todos los hallazgos clínicos, antes de establecer un diagnóstico definitivo.

Negativo

Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en el área de la línea de test (T). El resultado del test indica que no hay IgM anti-CHIKV en la muestra.



No válido

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.



3. Myers RM and Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. Science 1967;157:1307-8.
4. 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 mungobulbin 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.

Rev. 0, 2015-11-16 MP

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento. Se trata de la línea coloreada que aparece en la región de control (C). Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BLP)* recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Chikungunya IgM detecta la presencia de anticuerpos IgM contra el virus de Chikungunya en las muestras y no se debe utilizar como único criterio para el diagnóstico de chikungunya.
- Al igual que con otros test, un diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de una sola prueba, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Los resultados negativos no excluyen la posibilidad de una infección por Chikungunya.

13. Características del rendimiento

Se analizaron 127 muestras positivas y 296 muestras negativas utilizando el test NADAL® Chikungunya IgM y un ELISA de captura de CHIKV IgM disponible comercialmente.

En la siguiente tabla se muestran los resultados.

		ELISA de captura de IgM CHIKV		
		+	-	Total
Test NADAL® Chikungunya IgM	+	123	4	127
	-	4	292	296
	Total	127	296	423

Sensibilidad relativa: 96,9%

Especificidad relativa: 98,6%

Concordancia general: 98,1%

14. Referencias

1. 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.
2. 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

1. Scopo del test

Il test NADAL® Chikungunya IgM è un immunodosaggio cromatografico a flusso laterale per l'individuazione qualitativa di IgM anti-Chikungunya in campioni di siero, plasma oppure sangue intero umani. Il test è inteso come esame di screening e come ausilio nelle diagnosi di infezioni da Chikungunya. Il test fornisce solo un risultato preliminare. Pertanto, si consiglia l'impiego di ulteriori test di riferimento quali ELISA oppure PCR per confermare l'infezione.

2. Introduzione e Significato Clinico

Il virus Chikungunya (CHIKV) è un virus rivestito, RNA, a filamento positivo appartenente alla famiglia delle *Togaviridae* insieme con il genere dell'*Alphavirus* identificato per la prima volta nel 1953. La febbre Chikungunya (CHIK) è trasmessa all'uomo da una varietà di zanzare che include *Ae. aegypti*, *Ae. africanus*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. fuscifer* e *Ae. Taylori*. La varietà principalmente responsabile, però, resta quella della zanzara tigre asiatica. Il CHIKV ha causato focolai in Africa dell'Est (Tanzania e Uganda), in Africa Australe (Zimbabwe e Sud Africa), in Africa dell'Ovest (Senegal e Nigeria) e in Africa Centrale (Repubblica Centrale Africana e Repubblica Democratica del Congo).

In Asia invece, i focolai causati dal CHIKV sono stati riportati in India, Sri Lanka, Myanmar, Thailandia, Indonesia, Filippine, Cambogia, Vietnam, Hong Kong e Malesia. I sintomi includono la comparsa improvvisa di febbre, brividi, mal di testa, nausea, vomito, dolore articolare con o senza gonfiore, dolore lombare ed eruzioni cutanee molto simili alla Dengue. Entrambe le malattie sono trasmesse principalmente dalla stessa specie di zanzare *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Focolai misti causati da chikungunya con sporadici episodi di dengue sono stati riportati nello stato dell'Andhra Pradesh, India. Comunque, a differenza della dengue, le infezioni causate dal CHIKV non comportano sindromi emorragiche o shock. Pertanto, la possibilità di poter distinguere tra infezioni da CHIKV e infezioni da virus dengue è estremamente vantaggiosa, soprattutto in aree dove le infezioni da virus dengue sono endemiche o epidemiche. Il test NADAL® Chikungunya IgM utilizza antigeni ricombinanti presenti nella struttura delle proteine. Il test è in grado di rilevare gli IgM anti-CHIKV in campioni di siero, plasma oppure sangue intero entro 15 minuti. Il test può essere eseguito da personale inesperto o minimamente formato senza il bisogno di ingombranti attrezzature di laboratorio.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Chikungunya IgM è un immunodosaggio cromatografico a flusso laterale. Il test a cassetta consiste di: 1) tampone coniugato di colore bordeaux contenente antigeni CHIKV coniugati ad oro colloidali (coniugati CHIKV) e IgG-oro coniugati di coniglio, 2) una striscia di membrana di nitrocellulosa contenente la regione della linea del test (T) e la regione della linea di controllo (C). La linea del test (T) è rivestita con IgM anti-umani mentre quella di controllo (C) è rivestita con IgG di capra anti-coniglio.

Se nel pozzetto di raccolta del campione del test a cassetta viene dispensato un volume sufficiente di campione, questo migra lungo il test a cassetta per azione capillare. Se nel campione sono presenti IgM contro il CHIKV, questi si legano

ai coniugati CHIKV. L'immunocomplesso viene poi catturato sulla membrana dagli IGM anti-umani di cui è rivestita formando una linea del test (T) di colore bordeaux. Tale linea è indicativa di un risultato positivo del test.

L'assenza della linea del test (T) suggerisce invece un risultato negativo.

Il test contiene un controllo interno (linea C) che dovrebbe manifestarsi nella comparsa di una linea di colore bordeaux dell'immunocomplesso di coniugati oro IgG di capra anti-coniglio/IgG di coniglio indipendentemente dalla presenza della linea del test (T). In caso contrario, il risultato del test è da considerarsi non valido ed il campione dovrebbe essere analizzato utilizzando un nuovo test a cassetta.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 20 test a cassetta NADAL® Chikungunya IgM (pipette monouso incluse)
- 1 soluzione
- 1 istruzioni per l'uso

5. Altri materiali richiesti

- Contenitore di raccolta del campione
- Bisturi (solo per il prelievo di sangue intero)
- Centrifuga (per siero/plasma)
- Tubicini capillari eparinizzati e pompetta di gomma (solo per il prelievo di sangue intero)

6. Conservazione e Stabilità

Tutti i reagenti sono già pronti per l'uso. Conservare i test a cassetta chiusi a 2-30°C. Se conservati tra 2-8°C, assicurarsi che i test siano portati a temperatura ambiente prima dell'apertura. I test a cassetta rimangono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. Non congelare i test e non esporli a temperature superiori ai 30°C.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente la procedura del test prima di eseguirlo.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Non riutilizzare i test.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Non toccare la zona di reazione (result area) al fine di evitare il verificarsi di episodi di contaminazione.
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata dei campioni utilizzando sempre un nuovo contenitore di raccolta del campione per ogni campione.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi micro-

biologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.

- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- Umidità o temperature elevate possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

Il test NADAL® IgM Chikungunya può essere eseguito su campioni di sangue intero (ottenuti tramite prelievo venoso o puntura del polpastrello) siero o plasma.

Campioni di sangue intero, prelievo venoso o puntura del polpastrello:

- Lavare la mano del paziente con sapone ed acqua calda o pulire la zona da incidere con alcol. Fare asciugare.
- Massaggiare la mano del paziente senza toccare la zona del prelievo sfregando la mano verso il basso in direzione del dito medio o dell'anulare.
- Incidere la pelle utilizzando un nuovo bisturi per ogni paziente. Asciugare la prima goccia di sangue.
- Sfrangere leggermente la mano del paziente dal polso al palmo fino al dito inciso affinché si formi una nuova goccia di sangue.

Separare siero e plasma immediatamente al fine di evitare emolisi. Utilizzare solo campioni chiari non emolizzati

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo. Campioni di siero e plasma possono essere conservati tra 2-8°C per un massimo di 3 giorni. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C. I campioni di sangue intero raccolti attraverso prelievo venoso vanno conservati a 2-8°C nel caso in cui il test venga svolto entro 2 giorni dalla raccolta del campione. Non congelare i campioni di sangue intero. I campioni raccolti attraverso puntura del polpastrello andrebbero testati immediatamente. Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire il test. I campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati adeguatamente prima di eseguire il test. Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni. Nel caso in cui si intenda spedire i campioni, questi andrebbero imballati seguendo le regolamentazioni locali in materia di trasporto di agenti eziologici.

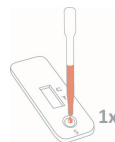
9. Procedura del Test

Portare a test, i campioni e/o i controlli a temperatura ambiente (15-30°) prima di eseguire il test.

1. Rimuovere il test a cassetta dalla confezione ed utilizzare il test appena possibile. I risultati migliori saranno ottenuti se il test viene eseguito entro un'ora.
2. Posizionare il test a cassetta su una superficie piana e pulita.

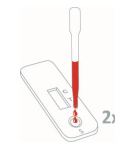
3. a) Per i campioni di siero o plasma:

Mantenendo il contagocce in posizione verticale, aggiungere 1 goccia (circa 30 µL) di siero o plasma al pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta.



b) Prelievo campioni di sangue intero venoso:

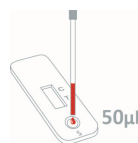
Mantenendo il contagocce in posizione verticale, aggiungere 2 gocce (circa 50 µL) di sangue intero ottenuto tramite prelievo venoso al pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta.



c) Prelievo di sangue intero tramite puntura del polpastrello:

I. Utilizzare il tubo capillare:

Toccare il campione di sangue con il tubo capillare e riempirlo fino a circa 50 µL. Evitare la formazione di bolle d'aria. Posizionare la pompetta di gomma al lato opposto del tubo capillare e premere per trasferire il campione di sangue intero nel pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta.



II. Trasferire direttamente le gocce di sangue:

Posizionare il dito del paziente al di sopra dell'area di raccolta del campione del test a cassetta in modo che la goccia di sangue cada direttamente in corrispondenza di essa. Versare 2 gocce di sangue intero al centro dell'area di raccolta del campione del test a cassetta o guidare il dito del paziente affinché la goccia di sangue tocchi il centro dell'area di raccolta del campione. Evitare che il dito tocchi direttamente il pozzetto di raccolta del campione (S).



4. Aggiungere 1 goccia (circa 40 µL) di soluzione al pozzetto di raccolta (S). Avviare il timer.

5. Attendere la comparsa delle linee colorate. Leggere il risultato dopo 15 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 15 minuti.

10. Interpretazione dei risultati

Positivo

Compaiono due linee colorate sulla membrana. Comparire una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) e una linea nella regione della linea del test (T). Il risultato del test indica la presenza di IgM anti-CHIKV nel campione.



Nota bene: Campioni che mostrano un risultato positivo andrebbero confrontati con altri metodi di analisi ed indagini cliniche prima di emettere una diagnosi positiva.

Negativo

Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo (C). Non compare alcuna linea nella regione della linea del test (T). Il risultato del test indica che nel campione non sono presenti IgM anti-CHIKV.



Non valido

La linea di controllo non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta in maniera corretta e che sono state applicate le giuste tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio* (GLP) raccomanda l'impiego di metodi di controllo al fine di confermare la corretta performance del kit di test.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Chikungunya IgM rileva la presenza degli anticorpi IgM del virus Chikungunya nel campione e non va utilizzato come unico criterio per la diagnosi di infezioni da Chikungunya.
- Come per tutti i test diagnostici, la diagnosi finale non dovrebbe basarsi esclusivamente sul risultato di un singolo test ma dovrebbe essere elaborata dal medico solo dopo la valutazione di tutte le analisi cliniche e di laboratorio condotte.
- Se il risultato del test è negativo ma i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire altri test utilizzando altri metodi clinici di analisi. Risultati negativi non precludono la possibilità di infezioni da Chikungunya.

13. Caratteristiche Tecniche

Sono stati analizzati 127 campioni positivi e 296 negativi utilizzando il test NADAL® Chikungunya IgM ed un test CHIKV IgM capture ELISA normalmente reperibile in commercio.

I risultati sono riassunti nella seguente tabella.

Test NADAL® Chikungunya IgM	CHIKV IgM capture ELISA		
	+	-	Totale
+	123	4	127
-	4	292	296
Totale	127	296	423

Sensibilità Relativa: 96,9%











Specificità Relativa: 98,6%

Andamento complessivo: 98,1%

14. Bibliografia

1. 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.
2. 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
3. Myers RM and Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. *Science* 1967;157:1307-8.
4. 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 mungoblobulin 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.

Rev. 0, 2015-11-16 BN

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	In-vitro-Diagnostika	In-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límites de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0
Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0
Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29
Free Tel: 0800 291 565
Fax: +49 290 10-50
Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18
Free Tel –UK: 0808 234 1237
Free Tel –IRE: 1800 555 080
Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240
France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720
Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82
Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16
Lux. Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759
Free Tel: 900 938 315
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34
Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44
Free Tel: 00 800 491 15 95
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735
Tel. Verde: 800 849 230
Fax: +49 941 290 10-50
Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600
Free Tel: 0800 0222 890
Fax: +31 70 30 30 775
Free Fax: 0800 024 9519

Denmark:

Tel: +31 703075 603
Free Tel: +45 80 88 87 53
Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40
Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1