

SCREEN®

Test rapido *Clostridium difficile*

(Feci)

Foglietto illustrativo

Test rapido, immediato per l'individuazione dell'antigene *Clostridium difficile* nelle feci umane.

Solo per uso professionale in vitro.

【USO PREVISTO】

Il test rapido per *Clostridium difficile* è un test rapido immunocromatografico per l'individuazione qualitativa di *Clostridium difficile* GDH nei campioni di feci umane.

【SOMMARIO】

Il *Clostridium difficile* è un batterio anaerobico che agisce come patogeno opportunista: cresce nell'intestino quando la normale flora viene alterata dalla terapia antibiotica^{1,2,3}. Alcune forme tossinogene del *Clostridium difficile* causano infezioni dalla diarrea lieve alla colite pseudomembranosa, fino ad indurre potenzialmente il decesso⁴.

Il disturbo è causato da due tossine prodotte dalle forme tossinogene di *C. difficile*: la Tossina A (enterotossina danneggia tessuti) e la Tossina B (citotossina). Alcuni tipi producono entrambe le tossine A e B, altri producono solo la Tossina B. Il potenziale ruolo di una terza tossina (binaria) nella patogenicità è ancora materia di discussione⁴.

L'uso di Gluttammato Deidrogenasi (GDH) come marker antigenico della proliferazione di *C. difficile* si è dimostrato molto efficace poiché tutti i tipi producono alte quantità di questo enzima^{5,6}.

Il test per *Clostridium difficile* permette l'individuazione specifica di GDH da *C. difficile* nei campioni fecali. Campioni con un risultato positivo del test per *Clostridium difficile* necessiteranno di ulteriori test per la tossicità dei batteri.

【PRINCIPIO】

Il test è pronto all'uso e si basa su una tecnologia a membrana con oro colloidale. Una membrana di nitrocellulosa viene sensibilizzata con un anticorpo diretto contro l'antigene del *Clostridium difficile* (GDH). La specificità del test viene garantita da un anticorpo specifico per il GDH del *Clostridium difficile* coniugato all'oro colloidale. Questo coniugato è essiccato su poliestere.

Il campione fecale deve essere diluito nel buffer di estrazione fornito con il test. Quando la sospensione fecale entra in contatto con la striscia, il coniugato solubile migra con il campione per diffusione passiva e il coniugato e il materiale del campione entrano in contatto con l'anticorpo anti-*Clostridium difficile* assorbito nella nitrocellulosa. Se il campione contiene GDH di *C. difficile* il complesso coniugato-antigene rimane legato al reagente GDH *C. difficile* e si forma una linea rossa. La soluzione continua a migrare per incontrare un secondo reagente che si lega al coniugato di controllo della migrazione producendo una linea rossa di controllo a conferma del corretto funzionamento del test. Il risultato è visibile entro 15 minuti.

【REAGENTI】

L'astuccio del test contiene particelle anti- GDH di *Clostridium difficile* e la membrana è ricoperta di anti-GDH di *Clostridium difficile*.

【PRECAUZIONI】

- Tutte le operazioni relative all'uso di questo test devono essere svolte secondo Buone Pratiche di Laboratorio (BPL).
- Tutti i reagenti sono solo per uso diagnostico in vitro.
- Evitare di toccare la nitrocellulosa con le dita.
- Indossare sempre guanti protettivi nella manipolazione dei campioni.
- Mai usare reagenti da altri kit.
- Le linee verdi indicano i siti di assorbimento degli immunoreagenti. Il colore verde scompare durante il test.
- La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se non vengono conservati alle condizioni indicate in questo foglietto illustrativo.
- Gettare guanti, tamponi, provette e altri dispositivi del test secondo le BPL.
- Ogni utente è responsabile per la manipolazione dei prodotti di scarto prodotti e deve assicurarsi di aver smaltito i rifiuti secondo la legislazione prevista.

【CONSERVAZIONE E STABILITÀ】

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

【RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE】

I campioni di feci devono essere testate il prima possibile dopo la raccolta. Se necessario, possono essere conservati a 2-8°C per 1 settimana o a -20°C per periodi più lunghi.

Assicuratevi che i campioni non siano trattati con soluzioni contenenti formaldeide o suoi derivati.

【MATERIALI】

Materiali forniti

- Astucci test
- Foglietto illustrativo
- Provetta di raccolta campione con buffer
- Contagocce

Materiali necessari ma non forniti

- Timer
- Contenitori di raccolta campioni

【ISTRUZIONI PER L'USO】

Portare il test, il campione, il buffer e/o i controlli a temperatura ambiente (15-30°C) prima del test.

1. Per esaminare i campioni fecali:

Per campioni solidi:

Aprire il tappo della provetta di raccolta campione, poi infilzare casualmente l'applicatore di raccolta campione nel campione fecale in almeno 3 punti per raccogliere circa 60 mg di feci (equivalenti ad ¼ di un pisello). Non sollevare il campione fecale.

Per campioni liquidi:

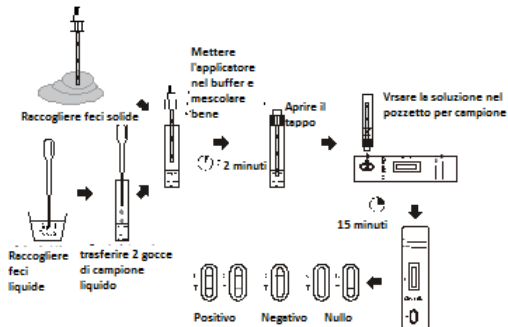
Mantenere il contagocce in posizione verticale, aspirare i campioni fecali e trasferire 2 gocce (circa 60 µL) nell'applicatore di raccolta campione contenente il buffer di estrazione. Assicurare il tappo sulla provetta di raccolta campione, poi scuotere la provetta vigorosamente per mescolare il campione e il buffer di estrazione. Lasciar riposare per 2 minuti.

2. Portare la confezione a temperatura ambiente prima di aprirla. Rimuovere l'astuccio del test dalla confezione e usarlo entro un'ora. Si otterranno risultati migliori se il test viene eseguito subito dopo l'apertura della confezione.

3. Tenere dritta la provetta di raccolta campione e aprire il tappo. Rovesciare la provetta e **trasferire 3 gocce piene del campione estratto** (circa 120 µL) nel pozzetto del campione (S) poi avviare il timer. Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto del campione (S). Vedere l'illustrazione di seguito.

4. Leggere i risultati 15 minuti dopo aver versato il campione. Non leggere i risultati oltre i 20 minuti.

Nota: Se il campione non migra (presenza di particelle), centrifugare i campioni estratti contenuti nella fiala del buffer di estrazione. Raccogliere 80 µL di surmatante, versarlo nel pozzetto del campione (S) di un nuovo astuccio e ricominciare dall'inizio seguendo le istruzioni sopra riportate.



【INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI】

(Si prega di fare riferimento all'illustrazione sopra)

POSITIVO:* Compaiono due linee. Una deve sempre comparire nella zona della linea di controllo (C) e un'altra linea colorata deve comparire nella zona del test (T).

***NOTA:** L'intensità del colore nella zona della linea del test (T) varia a seconda della concentrazione di Adenovirus presente nel campione. Perciò ogni sfumatura di colore nella zona della linea del test (T) dovrebbe essere considerata positiva.

NEGATIVO: Comparire una linea colorata nella zona di controllo (C). Non comparire nessuna linea colorata nella zona del test (T).

NULLO: Non comparire 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.

Nota: durante il processo di essiccazione, può apparire un'ombra molto flebile nella zona della linea del Test. Non va considerata come risultato positivo.

【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. Gli standard di controllo non sono forniti con il presente kit; tuttavia, si consiglia di testare controlli positivi e negativi come buona pratica di laboratorio a conferma della corretta procedura del test e per verificarne la prestazione.

【LIMITAZIONI】

1. Il Test è qualitativo e non può prevedere la quantità di antigeni presenti nel campione. Una presentazione clinica e altri test devono essere presi in considerazione prima di stabilire una diagnosi.

2. Un test positivo non esclude la possibile presenza di altri agenti patogeni.

【PRESTAZIONI】

Limite di individuazione

Il limite di individuazione è stato valutato diluendo una preparazione di GDH purificato e i risultati mostrano che la concentrazione di proteina individuata è di 1ng/mL.

Sensibilità-Specificità

È stata condotta una valutazione su 318 campioni di feci umane. I risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti attraverso un metodo tradizionale di coltura in un laboratorio clinico (Belgio).

Metodo	Coltura			Risultati totali
	Risultati	Positivo	Negativo	
	Test rapido <i>Clostridium difficile</i> (Feci)	Positivo	75	
	Negativo	0	226	226
Totale risultati		75	243	318

Sensibilità relativa: >99.9% (95%CI:*93.9%-100%)

Specificità relativa: 93.0% (95%CI:*88.8%-95.7%)

Accuratezza: 94.7% (95%CI:*91.6%-96.9%)

*Intervalli di confidenza

Ripetibilità e riproducibilità

Per controllare l'accuratezza intra-test (ripetibilità), gli stessi campioni positive ed una soluzione buffer sono stati esaminati 15 volte su kit dello stesso lotto di produzione nelle stesse condizioni sperimentali. Tutti i risultati osservati si sono confermati come atteso. Per confermare l'accuratezza intra-test (riproducibilità), alcuni campioni (positivi e buffer) sono stati esaminati su kit di tre diversi lotti di produzione. Tutti i risultati sono stati confermati come atteso.

Interferenze

La cross-reattività dei campioni positivi per i seguenti agenti patogeni è stata testata ed è risultata negativa a: *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemanii* (sg1), *Legionella lonbeachae*, *Legionella pneumophila* (sg1),

Moraxella catarrhalis, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria meningitidis* (sg B & C), *Neisseriasicca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (Gr B, C, F, G), *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Urea plasma urealyticum*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahemolyticus*, *Yersinia enterocolitica* (type 1, 3, 9).

【RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI】

- Ramadass Balamurugan, V. Balaji and Balakrishnan S. Ramakrishna: *Estimation of faecal carriage of Clostridium difficile in patients with ulcerative colitis using real time polymerase chain reaction*, Indian Journal of Medical Research, p.472-477, May 2008
- E. J. Kuijper, B. Coignard and P. Tüll: *Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe*, Review Clinical Microbiology and Infections, 12 suppl, p. 2-18, Oct. 2006
- Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T. Wilkins: *Clostridium difficile: its disease and toxins*. Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988
- Ramsey L. et al: *Fulminant Clostridium difficile: an underappreciated and increasing cause of death and complications*, Annals of Surgery 235 (3) p. 363-372; Mar. 2002
- Wren MW., Kinson R., Sivapalan M., Shemko M., Shetty NR.: *Detection of Clostridium difficile infection: a suggested laboratory diagnostic algorithm*, British Journal of Biomedical Sciences, 66(4) p. 175-179, 2009.
- Willis DH. And JA Kraft: *Confirmation that the latex-reactive protein of Clostridium difficile is a Glutamate Dehydrogenase*. Journal of clinical microbiology, 30, p. 1363-1364, May 1992

Legenda dei simboli

	Attenzione, vedi istruzioni d'uso		Test per kit		Rappresentante autorizzato
	Solo per uso diagnostico in vitro		Usare entro		Monouso
	Conservare a 2-30°C		Numero lotto		# Catalogo
	Non usare con confezione danneggiata				



SCREEN ITALIA Srl Via Volumnia, 40/b
06135 Ponte San Giovanni - Perugia - Italia
www.screenitalia.it info@screenitalia.it



Numero: 145444900
Valido dal: 2016-12-13