

Test rapido IVD per l'individuazione di antigeni della Tossina A e Tossina B Clostridium difficile in campioni di feci umane.
Solo per uso professionale.

USO PREVISTO

Il test rapido Combinazione Tossina A+Tossina B Clostridium difficile (Feci) è un test immunologico cromatografico rapido per l'individuazione qualitativa di antigeni della Tossina A e Tossina B Clostridium difficile in 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 con antibiotici^{1,2,3}. Ceppi tossigeni di Clostridium difficile causano infezioni da semplice diarrea a colite pseudomembranosa, che può causare anche il decesso⁴. La malattia è causata da due tossine prodotte dai ceppi tossigeni di C. difficile: la Tossina A (enterotossina che danneggia i tessuti) e la Tossina B (citotossina). Alcuni ceppi producono sia la tossina A che la B, mentre altri producono solo la B. Il potenziale ruolo di una terza tossina (binaria) nella patogenesi è ancora dibattuto⁵.

PRINCIPIO

Il test rapido Combinazione Tossina A+Tossina B Clostridium difficile individua due antigeni distinti nei campioni di feci per C. difficile, viz., Tossina A e Tossina B su due diverse strisce del test nello stesso dispositivo, dunque individua simultaneamente due antigeni specifici del Clostridium difficile.

Per il test della Tossina A-specifica C. difficile

La membrana è rivestita di un anticorpo anti-Tossina A C. diff. e di anticorpo anti-Tossina A C. diff. su tutta l'area della linea del test. Durante il test, il campione reagisce con la particella ricoperta di anticorpo anti-Tossina A C. diff. Il composto migra verso l'alto sulla membrana cromatograficamente per azione capillare reagendo con l'anticorpo anti-Tossina A C. diff. sulla membrana e genera una linea colorata. La presenza di questa linea colorata nella zona della linea del test indica un risultato positivo, mentre la sua assenza indica un risultato negativo. Come controllo procedurale, si forma sempre una linea colorata nella zona di controllo, ad indicare che è stato versato un volume appropriato di campione e che la membrana è stata bagnata.

Per il test della Tossina B-specifica C. difficile

La membrana è rivestita di un anticorpo anti-Tossina B C. diff. e di anticorpo anti-Tossina B C. diff. su tutta l'area della linea del test. Durante il test, il campione reagisce con la particella ricoperta di anticorpo anti-Tossina B C. diff. Il composto migra verso l'alto sulla membrana cromatograficamente per azione capillare reagendo con l'anticorpo anti-Tossina B C. diff. sulla membrana e genera una linea colorata. La presenza di questa linea colorata nella zona della linea del test indica un risultato positivo, mentre la sua assenza indica un risultato negativo. Come controllo procedurale, si forma sempre una linea colorata nella zona di controllo, ad indicare che è stato versato un volume appropriato di campione e che la membrana è stata bagnata.

REAGENTI

Il supporto del test contiene particelle oro coniugate anti Tossina A Clostridium difficile e Anti tossina B Clostridium difficile accoppiate con anti-Tossina A Clostridium difficile e anti-tossina B Clostridium difficile che ricoprono la membrana.

PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico professionale in vitro. Non usare oltre la data di scadenza.
- Il test dovrà rimanere nella confezione sigillata fino all'uso.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui vengono manipolati i campioni o i kit.
- Maneggiare tutti i campioni come potenzialmente infetti. Osservare le precauzioni stabilite contro i pericoli microbiologici per tutta la durata della procedura e seguire le procedure standard per lo smaltimento appropriato dei campioni.
- Indossare abbigliamento protettivo come camici da laboratorio, guanti usa e getta e protezione per occhi durante l'analisi dei campioni.
- Il test usato dovrebbe essere gettato secondo i regolamenti locali.
- Umidità e temperatura possono influenzare negativamente i risultati.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare incartato 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 all'uso. **NON CONGELARE.** Non usare oltre la data di scadenza.

RACCOLTA E PREPARAZIONE CAMPIONE

I campioni di feci devono essere testati appena possibile in seguito alla raccolta. Se necessario, i campioni originali di feci possono essere conservati a 2-8°C per 3 giorni o a -20°C per periodi più lunghi; il campione estratto in buffer può essere conservato a 2-8°C per 1 settimana o a -20°C per periodi più lunghi.

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

MATERIALI

Materiali forniti

- Dispositivi test
- Foglietto illustrativo
- Provetta raccolta campione con buffer
- Contagocce

Materiali necessari ma non forniti

- Contenitore raccolta feci

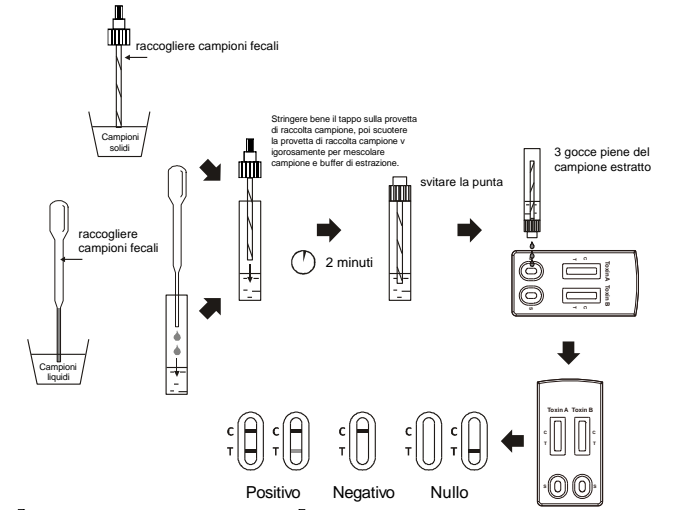
PROCEDURA

Portare il test, il campione, il buffer di raccolta feci e/o il controllo ad una temperatura ambiente equilibrata (15-30°C) prima del test.

PROCEDIMENTO DI PREPARAZIONE CAMPIONE:

- Per raccogliere campioni fecali:
Raccogliere una quantità sufficiente di feci (1-2 mL o 1-2 g) in un contenitore per raccolta feci pulito e asciutto per ottenere abbastanza antigeni (se presenti). I risultati migliori si ottengono se il test viene effettuato entro 6 ore dalla raccolta. Il campione raccolto può essere conservato per 3 giorni a 2-8°C se non viene testato entro 6 ore. Per periodi di conservazione maggiori, i campioni devono essere tenuti al di sotto dei -20°C.
- Per analizzare i campioni fecali:

- Per **Campioni solidi**:
Svitare il tappo della provetta di raccolta campione, poi **infilzare casualmente il campione con l'applicatore in almeno 3 punti diversi** per raccogliere all'incirca **50 mg di feci** (equivalente di 1/4 di pisello). Non mescolare il campione.
 - Per **Campioni liquidi**:
Tenere il contagocce verticale, aspirare i campioni fecali e trasferire 2 gocce del campione liquido (circa 80 µL) nella provetta di raccolta campione contenente il buffer di estrazione. Stringere bene il tappo sulla provetta di raccolta campione, poi **scuotere la provetta di raccolta campione vigorosamente** per mescolare campione e buffer di estrazione. Lasciar reagire la provetta per 2 minuti.
- Portare la confezione a temperatura ambiente prima di aprirla. Rimuovere il dispositivo del test dalla confezione sigillata e usarlo il prima possibile. I risultati migliori si ottengono se il test viene eseguito immediatamente dopo l'apertura della confezione.
 - Tenere dritta la provetta di raccolta campione e svitare la punta. Capovolgere la provetta e trasferire **3 gocce piene del campione estratto** (circa 120µL) nel pozzetto del campione (S) sul dispositivo del test, poi avviare il timer. Evitare di intrappolare bolle d'aria nel pozzetto del campione (S). Vedi illustrazione sotto.
 - Leggere i risultati a **10 minuti** dopo aver versato il campione. Non leggere i risultati trascorsi 20 minuti.
 - Nota:** se il campione non migra (presenza di particelle), centrifugare il campione diluito contenuto nella fiala del buffer di estrazione. Raccogliere 120µL di sopranatante, versarlo nel pozzetto del campione (S). Avviare il timer e riprendere dal punto 5 di cui sopra.



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati sono da interpretare come segue:
POSITIVO: *Compagno due linee colorate distinte. Una linea colorata dovrebbe essere nella zona della linea di controllo (C) e l'altra nella zona della linea del test (T).
***NOTA:** l'intensità del colore nella zona della linea del test (T) varia a seconda della concentrazione di antigeni di Clostridium difficile nel campione. Perciò, qualsiasi sfumatura di colore nell'area della linea del test (T) è da considerarsi positiva.
NEGATIVO: Comparare una linea nella zona della linea di controllo (C). Non compare nessuna linea nella zona della linea del test (T).
NULLO: La linea di controllo (C) non compare. Le ragioni più probabili della mancata comparsa della linea di controllo sono un volume insufficiente di campione o errori nelle tecniche procedurali. Rivedere la procedura e ripetere il test con un nuovo dispositivo. 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 interno. La comparsa di una linea colorata nella zona della linea di controllo (C) è un controllo procedurale positivo interno. Conferma che è stato usato un volume sufficiente di campione ed una corretta tecnica procedurale e che la membrana si è bagnata. 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

- Il Test rapido Combinazione Tossina A+Tossina B Clostridium difficile (Feci) è solo per uso diagnostico in vitro.
- 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.
- Un test positivo non esclude la possibile presenza di altri agenti patogeni.

VALORE ATTESO

Nei campioni di feci di un individuo sano, il test Clostridium difficile dovrebbe dare un risultato negativo per ogni antigene testato. Il Test rapido Combinazione Tossina A+Tossina B Clostridium difficile (Feci) è stato messo a confronto con un altro test rapido leader del mercato. La correlazione tra i due sistemi è stata del 98.5% per Tossina A+Tossina B C.diff.

PRESTAZIONI

Limite di individuazione

I valori limite di individuazione del Test rapido Combinazione Tossina A+Tossina B Clostridium

difficile è di 2ng/ml per la Tossina A e di 1ng/ml per la Tossina B.

Sensibilità - Specificità

Risultati Tossina A+Tossina B Clostridium difficile

Metodo	Altro test rapido		Risultati totali
	Positivo	Negativo	
Test rapido Combinazione Tossina A+Tossina B Clostridium difficile (Feci)	56	2	58
	1	141	142
Total Results	57	143	200

Sensibilità relativa: 98.2% (95%CI: 90.6%-99.9%)
Specificità relativa: 98.6% (95%CI: 95.0%-99.8%)
Accuratezza relativa: 98.5% (95%CI: 95.7%-99.7%) *Intervalli di confidenza

Ripetibilità e riproducibilità
Per controllare l'accuratezza intra-test (ripetibilità), gli stessi campioni positivi 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 inter-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.

Cross-reattività
È stata eseguita una valutazione per determinare la cross-reattività del Test rapido Combinazione Tossina A+Tossina B Clostridium difficile (Feci). Nessuna cross-reattività con patogeni gastroenterostinali a volte presenti come:

<i>Campylobacter coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigelladysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>E. coli O157:H7</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella boydii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

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 suppl6, 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

Indice dei simboli

	Consultare le istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentante autorizzato
	Solo per uso diagnostico in vitro		Utilizzare per		Non riutilizzare
	Conservare tra 2-30 °C		Numero di lotto		Catalogare #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata		Fabbricante		

SCREEN ITALIA S.r.l.
Via dell'Artigianato, 16
06089 - Torgiano - Perugia - Italia
www.screenitalia.it info@screenitalia.it



Numero: 145682601
Valido dal: 2019-11-20