

CRYPTO-DIPSTICK

Per uso diagnostico *in vitro*

Test immunocromatografico in vitro per la determinazione degli oocisti di *Cryptosporidium parvum* in campioni di feci

1. INTRODUZIONE

Le gastroenteriti sono infezioni multifattoriali che possono essere causate da virus come Adenovirus, Rotavirus, da batteri come la Salmonella o da protozoi come il *Cryptosporidium parvum*.

Il *Cryptosporidium* è un protozoo parassita dei vertebrati, associato a molte malattie diarroiche. È uno degli agenti infettivi responsabili della "diarrea del viaggiatore", patogeno opportunista, importante causa di enterite nei pazienti con sistema immunitario compromesso (AIDS) e nei bambini.

La diagnosi è effettuata esclusivamente mediante test di laboratorio in quanto la sintomatologia è spesso comune per i diversi agenti eziologici: tecniche di colorazione (Ziehl-Neelsen modificata), immunofluorescenza, ELISA, PCR. Tutti questi metodi di identificazione sono molto sensibili però lunghi, indaginosi e di appannaggio di operatori esperti.

I nuovi test immunocromatografici hanno rapidamente sostituito queste tecniche per la loro sensibilità, specificità, semplicità e rapidità di esecuzione.

2. PRINCIPIO DEL TEST

Il test permette di effettuare la ricerca del *Cryptosporidium* in campioni di feci mediante una tecnica immunocromatografica su membrana senza alcun pretrattamento del campione. È specifica tanto quanto una tecnica immunoenzimatica e presenta rapidità e facilità di esecuzione tipica solo dei tests al lattice.

La membrana è sensibilizzata con:

1. un anticorpo monoclonale ottenuto da cavia *Cryptosporidium* specifico;
2. un anticorpo monoclonale coniugato con particelle di lattice *Cryptosporidium* specifico;
3. un anti mouse IgG.

È un test pronto all'uso che necessita solo della diluizione del campione fecale con il tampone di diluizione. Se nel campione di feci sono presenti gli oocisti, si forma un complesso con l'anticorpo monoclonale coniugato con particelle di lattice, il complesso migra per capillarità e in presenza dell'anticorpo monoclonale anti *Cryptosporidium*, adeso alla membrana si forma una linea rossa (banda test). La migrazione continua fino ad incontrare l'anti mouse IgG per formare una seconda linea azzurro-violacea (banda di controllo). Se nel campione di feci non è presente il *Cryptosporidium* si formerà solo la seconda linea azzurra dovuta alla reazione tra l'anticorpo monoclonale coniugato con particelle di lattice e l'anti mouse IgG.

3. COMPOSIZIONE DEL KIT

3.1 1 x 25 strips confezionate in un flacone.

3.2 Tampone di diluizione del campione in un flacone gocciolatore da 25 ml.

3.3 Istruzioni per l'uso.

4. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Il kit è utilizzato per test in vitro.
- Indossare i guanti durante la manipolazione del campione.
- Non usare i reagenti di altri kits.
- Richiudere il contenitore immediatamente dopo aver prelevato le strips necessarie all'esecuzione del test.
- La qualità dei reagenti non può essere garantita dopo la data di scadenza o se conservati in condizioni non adeguate.
- Due linee verdi indicano la zona di legame con anticorpo. Queste linee scompaiono durante l'esecuzione del test.

5. CONSERVAZIONE

Una confezione chiusa di *Cryptosporidium-Dipstick* può essere conservata ad una temperatura compresa tra 4 e 30°C e utilizzata fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Le strisce e il tampone di diluizione rimangono stabili 15 settimane dopo l'apertura se mantenuti ad una temperatura compresa tra 4 e 30°C. e in condizioni anidre. Non rimuovere il gel essiccante dalla confezione delle strips.

6. CONSERVAZIONE

Il campione deve essere processato nel più breve tempo possibile. Se necessario può essere conservato:

- 24 ore a +4°C; un mese a -20°C. Non utilizzare fissativi contenenti formalina.

7. PROCEDURA

7.1 Preparazione del campione

Emulsionare una piccola quantità di materiale fecale nella provetta contenente 10 gocce di tampone effettuando una diluizione di circa 7% p/v o v/v in modo che rimanga una fase liquida. Nel caso di feci secche effettuare una diluizione preliminare altamente concentrata e da questa diluire secondo un rapporto 7% v/v.

7.2 Agitare brevemente e attendere 1-2 minuti per permettere ad eventuali frustoli di sedimentare.

7.3 Immergere la strip nella provetta contenente il campione ed eventualmente in quella contenente il controllo positivo, nella direzione indicata dalla freccia lasciando migrare per 10 minuti

Per evitare la diluizione del coniugato lattice evitare che il livello del campione oltrepassi la linea posta sotto la freccia.

8. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Letture dei risultati: 0 linee: test non valido; 1 linea: negativo; 2 linee: positivo. È possibile conservare le strips dopo aver rimosso la parte inferiore assorbente e lasciate asciugare. In alcuni casi, sulla strip asciutta, può comparire una lieve ombra sulla linea del risultato.



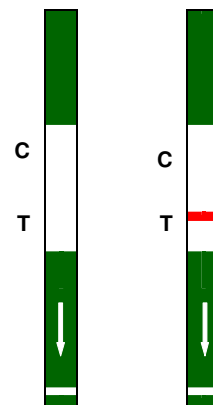
NEGATIVO



POSITIVO



NON VALIDO



9. VALIDAZIONE DEL TEST

E' stato effettuato uno studio su campioni fecali. I risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti con un test ELISA ed un test al microscopio: Sensibilità = 99% Specificità = 99%.

Limite di risoluzione: 50-100 ovociti / 100µl (diluizione di un campione positivo mediante metodo di Ziels-Niehlsen).

10. CROSS-REATTIVITA'

E' stata valutata la cross-reattività e trovato risultato negativo verso i seguenti patogeni:

Rotavirus, Adenovirus (A-F gruppi), Acinetobacter Iwoffi, Campylobacter jejuni, Giardia lamblia, Aeromonas hydrophila, E. coli O157:H7, Salmonella thyphimurium, Salmonella enteritidis, Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Serratia marescens, Shigella flexneri, Stenotrophomonas maltophilia, yersinia enterocolitica.

11. LIMITI DEL TEST

- Un risultato positivo non esclude la presenza di altri patogeni.
- Se il risultato è dubbio si consiglia di ripetere il test con materiale fresco.
- Una diagnosi definitiva deve essere basata su diversi parametri fisici e clinici e non sui risultati di un singolo test.

12. BIBLIOGRAFIA

1. Garcia L. et al. 2000. Detection of Giardia lamblia and Cryptosporidium parvum antigens in human fecal specimens using the ColorPac combination rapid solid-phase qualitative immunochromatographic assay. Journal of Clinical Microbiology, Mar.2000, p. 1267-1268
2. Hill DR, Nash TE. Intestinal Flagellate and Ciliate Infections. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF, eds. Tropical Infectious Diseases. Principles, Pathogens & Practice. 2nd ed. Elsevier, Philadelphia. 2006:984-8.
3. Copue S, Delabre K, Pouillot R et al. Detection of Cryptosporidium, Giardia and Enterocytozoon bienersi in surface water, including recreational areas: a one year prospective study: FEMS Immunol Med Microbiol. 2006; 47:351-9.

IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Limiti di temperatura	LOT	Codice del lotto (EXXX)	Fabbricante	Mantenere asciutto	Non sterile
Consultare le istruzioni per l'uso	Utilizzare entro (anno/mese)	REF	Numero di catalogo	Non riutilizzare	Fragile, maneggiare con cura	Tenere lontano dal calore	

CONFEZIONE (25 tests)

Dipstick (Strip)
Tampone
Istruzioni per l'uso

COD. VC1005

25 pezzi
25 ml
1 pz

Codice Ramo CND W0104050203

