

COMBI DIPSTICK

Per uso Diagnostico in Vitro

Test immunocromatografico per la determinazione di Rotavirus e Adenovirus in campioni fecali umani

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

Le gastroenteriti virali sono delle infezioni causate da diverse varietà di virus, come Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus e Norovirus. I sintomi principali sono vomito e diarrea. I soggetti infettati possono presentare anche mal di testa, febbre, crampi addominali (mal di stomaco). Generalmente i sintomi appaiono dopo 1 o 2 giorni dall'infezione e possono persistere per 5-8 giorni. Il Rotavirus è la causa più frequente di diarrea acuta nei bambini con meno di 2 anni di età. Adenovirus e Astrovirus sono responsabili della diarrea nei bambini più grandi e, alcune volte, anche in giovani e adulti.

COMBI DIPSTICK è un test immunocromatografico di screening per la determinazione di Rotavirus e Adenovirus nelle feci umane.

II. PRINCIPIO DEL METODO

Combi Dipstick è un metodo immunocromatografico "lateral flow" assolutamente non invasivo, semplice da eseguire, rapido e molto preciso nel risultato. Metodo sandwich immunocromatografico che utilizza anticorpi monoclonali coniugati con latex colorato, specifici per l'antigene di Adenovirus e Rotavirus e anticorpi monoclonali su fase solida, per la determinazione diretta del Adenovirus e Rotavirus nelle feci, con elevati livelli di sensibilità e specificità.

Il campione, aggiunto nel tubo da saggio, migra lungo la membrana per capillarità e l'eventuale presenza dell'antigene determina un legame con gli anticorpi monoclonali. Questo complesso reagisce con gli anticorpi nell'area Test producendo una banda blu (Adenovirus), e/o rossa (Rotavirus), mentre una banda di color verde si formerà sempre nella parte più alta della finestra di lettura. In assenza dell'antigene specifico non comparirà alcuna banda rossa o blu nell'area test, ma il campione continua la migrazione lungo la membrana filtrante fino alla zona di controllo, dove è legato anche un substrato generico capace di legare il secondo anticorpo marcato, dando luogo ad una banda verde che dimostra il corretto funzionamento dei reattivi.

III. REAGENTI E MATERIALI Ciascun kit contiene:

- 1. Combi Dipstick (25 test):** contenitore in plastica contenente le strisce reattive e del gel essiccante.
- 2. Tampone di Diluizione (1 x 20 mL):** soluzione salina tamponata a pH 7.5 contenente Sodio Azide (<0.1%), un detergente e proteine.
- 3. Istruzioni per l'uso (1)**

Materiale richiesto (non fornito)

Contenitore per la raccolta dei campioni, Guanti monouso, Pipette di plastica, Tubi da saggio, Timer o orologio.

REATTIVI AUSILIARI (non forniti con questo kit)

Controllo positivo e negativo (Mascia Brunelli Cod UD80015 e UD80020)

IV. PRECAUZIONI

- Tutte le operazioni relative all'uso del test devono essere condotte in accordo a corrette pratiche di laboratorio GLP.
- Combi-Dipstick è da usarsi esclusivamente per diagnosi in vitro.
- Indossare guanti prima di maneggiare i campioni.
- Non utilizzare reagenti provenienti da altri kit.
- Il flacone contenente i dipstick deve essere richiuso immediatamente dopo aver prelevato il quantitativo di strisce necessario, essendo un prodotto sensibile all'umidità. Assicurarsi che il sacchetto di essiccante sia presente nel flacone.
- Scartare il tampone di estrazione se dovesse risultare microbiologicamente contaminato.
- La qualità dei reagenti non è garantita oltre la data di scadenza indicata sulle etichette o se i reagenti non sono conservati nelle condizioni indicate.
- Come per tutti i test diagnostici, una diagnosi clinica definitiva non può basarsi sul risultato di un singolo test, ma deve essere confermata da ulteriori analisi.
- I componenti di questo I.V.D. sono sempre stati testati tra loro senza verificarne la compatibilità con componenti prodotti da altri fabbricanti. Pur non escludendo la possibilità che i componenti in questione possano essere usati con componenti di medesima formulazione ma prodotti da altre Aziende, non si ha un'evidenza sperimentale di tale compatibilità.

V. STOCCAGGIO

Conservare il flacone con le strip ben sigillato. Le strip e il tampone di diluizione possono essere conservati a temperatura ambiente o refrigerata (2-30 °C). Il test è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Non congelare.

VI. RACCOLTA DEI CAMPIONI

Raccogliere un sufficiente quantità di feci (1-2 g o mL per campioni liquidi). I campioni devono essere raccolti in un contenitore pulito ed asciutto (senza alcun terreno di trasporto o conservanti). Il campione può essere conservato a +2 °C - +8 °C per 1-2 giorni prima di essere testati. Per periodi di stoccaggio più lunghi i campioni vanno congelati a -20 °C. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato. I campioni possono essere congelati e scongelati per due volte.

VII. PROCEDIMENTO

Lasciare che il kit e i campioni raggiungano temperatura ambiente (15-30 °C) prima di procedere all'esecuzione del test. Non aprire il contenitore con le strip fino a che non si è pronti ad iniziare l'analisi. Scrivere i dati relativi al paziente sulla provetta (prevedere 1 provetta per campione) e posizionarla su un apposito supporto.

- Aggiungere 0,7 mL o 15 gocce di tampone di diluizione ad ogni provetta
- Immergere il bastoncino nel campione di feci, in modo da raccoglierne un piccolo quantitativo (100 mg) ed immergerlo nella provetta. Se necessario ripetere l'operazione una o due volte. Se le feci sono liquide usare 100 µL.
- Agitare per omogenare la soluzione e lasciar riposare per 1-2 minuti.
- Scartare il bastoncino ed immergere il dipstick secondo la direzione indicata dalla freccia sul dipstick stesso.
- Lasciar reagire per 10 minuti, senza superare il tempo di 15 minuti.

Campioni fortemente positivi possono dare risultato positivo entro 1-3 minuti.

Per evitare di diluire il coniugato con oro colloidale, fare attenzione a non immergere il dipstick oltre la linea posizionata sotto la freccia sul dipstick stesso.



VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Test negativo: quando appare una sola banda verde nella regione del controllo (banda di controllo).

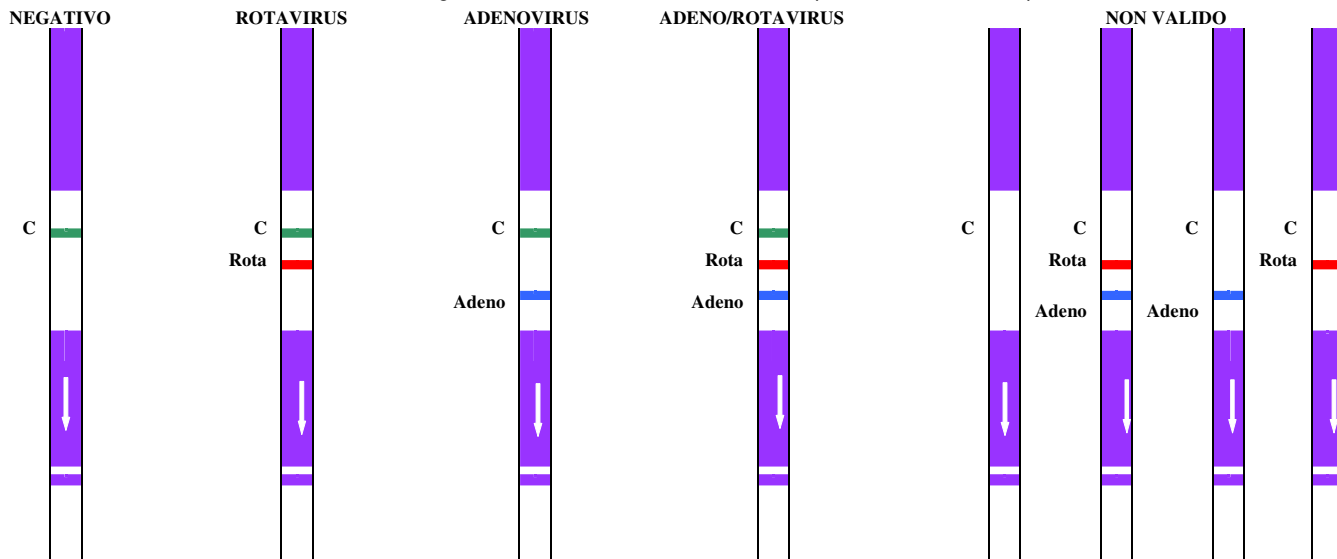
Test positivo Rotavirus: quando appaiono due bande nella zona centrale, una verde nella regione del controllo ed una rossa nella regione centrale.

Test positivo Adenovirus: quando appaiono due bande nella zona centrale, una verde nella regione del controllo ed una blu nella regione centrale.

Test positivo Adeno/Rota: quando appaiono tre bande nella zona centrale, una verde nella regione del controllo, una rossa ed una blu nella regione centrale.

Test non valido: assenza di qualsiasi banda o comparsa di banda rossa e/o blu (assenza della banda verde). Il test deve essere ripetuto. Dovuto ad insufficiente volume di campione, incorretta tecnica procedurale o deterioramento dei reagenti.

Prestare attenzione al fatto che un debole segnale sulla banda test deve essere interpretato come risultato positivo.



IX. CARATTERISTICHE

Sensibilità e Specificità

Il kit è stato validato confrontando i risultati ottenuti con Combi Dipstick su strip con quelli ottenuti con un test ELISA presente in commercio.

La sensibilità e la specificità del kit sono state determinate su 102 campioni di feci. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Sensibilità Adenovirus > 90% Specificità Adenovirus >99%
 Sensibilità Rotavirus > 99% Specificità Rotavirus >98%

Interferenze

Non si sono evidenziate interferenze con i patogeni occasionalmente presenti nel tratto gastro-intestinale come Astrovirus, Escherichia coli, Campylobacter, Giardia Lamblia, così come emoglobina umana.

X. LIMITI DEL TEST

- Combi Dipstick è un test di screening per la presenza di Adenovirus e Rotavirus nelle feci. Una diagnosi definitiva deve essere confortata da altri parametri clinici.
- Un risultato positivo non esclude la presenza di altri patogeni.
- Se il test risulta negativo ma i sintomi clinici persistono, si consiglia di effettuare test addizionali usando altri metodi clinici. Un risultato negativo non può escludere la possibilità di infezione da Adenovirus e/o Rotavirus.
- I componenti di questo IVD sono sempre stati testati tra loro senza verificare la compatibilità con altri produttori. Senza escludere la possibilità che questi reagenti possano essere utilizzati con reagenti di medesima formulazione ma prodotti da altre aziende, non vi è alcuna prova sperimentale di tale compatibilità.

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Comparison of immunochromatography with ELISA to detect Adenovirus in stools specimens. Th. Leclipteux D. Col, M. Venuti, F. Paulart, D. Van Beers, M. De Foor and R. Viehof. New Insights in Gastrointestinal Diseases, London, UK, May 1998
2. Set-up of a rapid immunochromatographic diagnostic test for Adenovirus detection. R. Viehoff, D. Van Beers, M. De Foor, D. Col, M. Venuti, F. Paulart and Th. Leclipteux. European Society for Clinical Virology. Progress in Clinical Virology IV, Hamburg, Germany, August 1998
3. Comparison of a immunochromatographic test for the simultaneous detection of Rotavirus and Adenovirus in stools. Depierreux Christophe, Coppe Philippe, Leclipteux, Thierry. Journées Francophones de Virologie. Paris, France, Avril 2000
4. Evaluation d'un Test Immunochromatographique pour la Détection Simultanée du Rotavirus et de l'Adenovirus dans les Matières Fécales. Depierreux Christophe, Leclipteux, Thierry. Virologie, mars-avril 2000, Vol. 4, N°2, p.137 (A20)
5. Evaluatie van de Immunochromatografische Isolatie van Rota- an Adenovirus. C. Tessa, M. Van Ranst Thesis, UZ Gasthuisberg Leuven, 2000
6. Study of Infectious Intestinal Disease in England – Microbiological Findings. D.S. Tompkins et al. Commun. Dis. Public Health 1999: 2108-113

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

Dipstick per la reazione immunocromatografica, 25 pezzi
 Flacone con tampone di diluizione 1 x 20 mL
 Foglio istruzioni 1 pezzo

COD. VC1004

Codice Ramo CND W0105099099

