

CRYPTO+GIARDIA CARD

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test immunocromatografico in vitro per la determinazione qualitativa degli antigeni di *Cryptosporidium* e *Giardia* in campioni di feci umane, comprensivo dei controlli

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

La cryptosporidiosi è una malattia diarroica causata da parassiti microscopici del genere *Cryptosporidium*. Una volta che un animale o una persona è infetta, il parassita vive nell'intestino e passa nelle feci. Il parassita è protetto da un involucro esterno che gli consente di sopravvivere per lunghi periodi di tempo al di fuori del corpo e che lo rende molto resistente ai disinfettanti a base di cloro. Sia la malattia che il parassita sono conosciuti comunemente come "Crypto". **Il test è specifico per il protozoo *Cryptosporidium parvum*.**

La giardiasi è una patologia diarroica diffusa in tutto il mondo. È causata da parassita protozoico flagellato, il *Giardia intestinalis*, altrimenti conosciuto come ***Giardia lamblia* e *Giardia duodenalis***.

La *Giardia* è la causa più comune di disturbi gastrointestinali sia nei paesi ad alto che a basso reddito.. La *Giardia* può essere la causa del 2-5% dei casi di diarrea in paesi a reddito elevato. Il Crypto+Giardia è un test immunocromatografico qualitativo per la determinazione degli antigeni di *Cryptosporidium* e *Giardia* in campioni fecali umani.

II. PRINCIPIO

Anticorpi monoclonali diretti contro gli antigeni di *Cryptosporidium* e *Giardia* sono adesi alla membrana nell'area test. Durante il test, il campione reagisce con le particelle adese con anticorpi anti-*Cryptosporidium* e anti-*Giardia* e che sono state seminate sul pad di deposizione del campione. La miscela si muove sulla membrana tramite azione capillare. Nel caso di qualsiasi risultato positivo gli anticorpi specifici presenti sulla membrana reagiranno con il coniugato della miscela e genereranno una o due linee colorate. Una banda di color verde si formerà sempre nella zona di controllo, indica che il volume aggiunto era sufficiente (Controllo interno)

III. REAGENTI E MATERIALI

Il kit contiene tutti i materiali necessari per eseguire 25 determinazioni:

Crypto+Giardia (25 pezzi) Le card vengono conservate con essiccante.

Tampone-Diluyente di Estrazione (25): flaconi contenenti 1 mL di soluzione di estrazione, sali, detergenti e proteine.

Controllo Positivo Crypto - Giardia (1 x 0.5 mL): N.1 vial con gocciolatore contenente componenti non-infettivi e NaN_3 come conservante.

Controllo Negativo: usare Diluyente-Tampone di estrazione (soluzione d'estrazione).

10 pipette- gocciolatori

Istruzioni per l'Uso (1 pz)

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

Dispositivi per la raccolta dei campioni; Guanti monouso; Cronometro; Provette/tubi da saggio; Pipette di plastica.

IV. PRECAUZIONI

- Per tutte le operazioni seguire le buone pratiche di laboratorio.
- Solo per uso diagnostico in vitro professionale.
- Evitare di toccare la nitrocellulosa
- Utilizzare i guanti durante la manipolazione
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e maneggiati alla stregua di un agente infettivo.

Non usare direttamente il campione fecale. Eseguire sempre il pre-arricchimento del campione. In caso contrario si potrebbero avere risultati non idonei.

- Non usare reagenti provenienti da altri kit
- Eliminare il diluyente se contaminato
- Non usare dopo la data di scadenza riportata sulla scatola. Non utilizzare se la confezione risulta danneggiata

V. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare nella confezione sigillata in frigorifero o a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione. I dispositivi deve rimanere nel flacone chiuso fino all'utilizzo. Non congelare.

VI. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Raccogliere una sufficiente quantità di feci (1-2 g o mL per campioni liquidi). I campioni di feci devono essere raccolti in contenitori puliti ed asciutti (nessun conservante o terreno di trasporto). Nel caso non fosse possibile, **utilizzare feci conservate fissate o in terreni di trasporto Cary-Blair modificato o di Stuart**. I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-4°C/36-40°F) per 4-5 giorni prima di essere testati. Per periodi di stoccaggio più lunghi i campioni vanno congelati a -20°C fino a tre mesi. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato.

Campioni liquidi o semi-solidi

Usare una pipetta di trasferimento per ciascun campione. Prelevare una quantità di feci dal campione stesso e dispensarne 6-7 gocce in un flacone di estrazione. Miscelare su vortex per 15 secondi.

Prestare attenzione quando si pipettano feci semi-solidi. L'aggiunta di quantità di campione inferiore a quella indicata potrebbe dare luogo a risultati falsi negativi. Mentre l'aggiunta di una quantità superiore potrebbe originare risultati non validi a causa della difficoltosa migrazione del campione lungo la membrana.

Campioni solidi

Aprire la parte superiore del flacone di estrazione. Prelevare il campione con il bastoncino del tappo, toccando le feci in tre punti diversi. Verificare di trasferire all'interno del flacone di estrazione una piccola quantità di feci 150 mg (circa 6 mm circa di diametro). Riavvitare il tappo con il bastoncino e miscelare per ottenere una soluzione omogenea. Attendere almeno 3 minuti. Se necessario ripetere queste operazioni fino ad ottenere una soluzione giallo scuro-bruna.

Trasferire poche feci, miscelare poco la soluzione o lasciare le feci in sospensione nel flacone di estrazione può dare origine a risultati falsi negativi. Verificare di trasferire la quantità giusta di feci nel flacone di estrazione. Miscelare il campione su vortex prima dell'uso. L'aggiunta di una quantità superiore di feci potrebbe dare luogo a risultati non validi per la migrazione difficoltosa del campione lungo la membrana

VII. PROCEDURA DEL TEST

Prima di effettuare il test lasciare che i reagenti, i campioni di feci e il tampone raggiungano temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F).

Non aprire la busta con le card fino a quando non di è pronti ad effettuare l'analisi.

1. Una volta tolta dalla confezione usare la card Crypto-Giardia il prima possibile.
2. Agitare delicatamente il flacone contenente il campione. Miscelare su vortex per 15 secondi. Rompere il beccuccio sul tappo.
3. Dispensare 2-3 gocce di campione (100µL) nel pozzetto circolare della card.
4. Far partire il cronometro e leggere il risultato al 10° minuto (non superare i 15 minuti).
5. Interpretare i risultati in accordo allo schema riportato (Interpretazione dei Risultati).

PROCEDIMENTO PER CONTROLLI

Aggiungere il volume richiesto 2-3 gocce (100µL) di **Controllo Positivo/Negativo** nel pozzetto campione, leggere i risultati dopo 10 minuti.



VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI PER I CAMPIONI

I risultati devono essere interpretati nel seguente modo:



CRYPTO POSITIVO: nella finestra centrale appaiono due bande: una **rossa** nella zona test e una **verde** nella zona di controllo.

GIARDIA POSITIVO: nella finestra centrale appaiono due bande: una **blu** nella zona test e una **verde** nella zona di controllo.

CRIPTO-GIARDIA POSITIVO: nella finestra di lettura appaiono tre bande una **rossa** e una **blu** nella zona test e una **verde** nella zona di controllo.

NEGATIVO: nella finestra centrale appare solo una banda **verde** (banda controllo) nella zona di controllo.

INVALIDO: assenza di qualsiasi banda o comparsa di banda/e rossa e/o blu (assenza della banda verde).

Nota: un insufficiente volume di campione, una scorretta pratica procedurale o il deterioramento dei reagenti sono le cause più probabili della mancata comparsa della banda di controllo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI PER I CONTROLLI

CONTROLLO NEGATIVO: nella finestra centrale appare solo una banda **verde** (banda controllo) nella zona di controllo.

CONTROLLO CRIPTO-GIARDIA POSITIVO: nella finestra di lettura appaiono tre bande due **viola** nella zona test e una **verde** nella zona di controllo.

NOTE ALL'INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'intensità della bande rossa e blu nella zona test variano in funzione della concentrazione dell'antigene nel campione. In ogni modo né un dato quantitativo, né il tasso di incremento dell'antigene può essere ricavato da questo test qualitativo.

IX. CARATTERISTICHE FUNZIONALI

Sensibilità e Specificità

Alcuni campioni fecali sono stati studiati mediante esame microscopico, PCR e con Crypto+Giardia CARD mostrando:

Risultati Cryptosporidium:

		Esame microscopico/PCR		
		+	-	
Crypto+Giardia CARD	+	25	0	25
	-	0	229	229
		25	229	254
		Sensibilità	Specificità	
		>99%	>99%	
		PPV	NPV	
		>99%	>98%	

Risultati Giardia:

		Esame microscopico/PCR		
		+	-	
Crypto+Giardia CARD	+	61	0	61
	-	2	191	193
		63	191	254
		Sensibilità	Specificità	
		97%	>99%	
		PPV	NPV	
		>99%	>99%	

X. CROSS REATTIVITÀ

È stata effettuata una valutazione per determinare la cross-reattività di Crypto+Giardia CARD. Non è stata riscontrata cross-reattività con i più comuni parassiti gastrointestinali occasionalmente presenti nelle feci come: Acinetobacter lwoffii, Campylobacter jejuni, Aeromonas hydrophila, E. coli O157:H7, Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis, Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Serratia marcescens, Shigella flexneri, Stenotrophomonas maltophilia, Helicobacter pylori, Yersinia enterocolitica 01, Yersinia enterocolitica 03, Yersinia enterocolitica 09, Rotavirus, Adenovirus (A to F groups), Adenovirus 40/41, Campylobacter coli, E. coli O117:H7, E. coli O55:H7, E. coli O157 VT neg (EH431), E. coli O157 VT neg (EH546), E. coli O157:H19, E. coli O7:H1, E. coli O116:H-, E. coli K99, Cryptosporidium parvum, Escherichia hermannii, Entamoeba histolytica, Brucella melitensis, Brucella abortus.

XI. LIMITAZIONI

- Crypto+Giardia CARD indicherà soltanto la presenza di parassiti nel campione (determinazione qualitativa) e deve essere usato esclusivamente per la determinazione degli antigeni di Cryptosporidium e Giardia nelle feci. Né un dato quantitativo, né il tasso di incremento dell'antigene può essere determinato con questo test.
- Un eccesso di campione può causare risultati errati (comparsa di bande marroni). Diluire il campione con il tampone e ripetere la prova.
- Non usare campioni trattati con soluzioni contenenti formaldeide o suoi derivati.
- Se il risultato del test è negativo e i sintomi clinici persistono si suggeriscono ulteriori esami utilizzando altri metodi clinici. Un risultato negativo non esclude del tutto la possibilità di cryptosporidiosi e giardiasi.
- Dopo una settimana dall'infezione, il numero di parassiti nelle feci inizia a decrescere rendendo il campione meno reattivo. Il campione di feci dovrebbe essere raccolto nella prima settimana dall'insorgenza dei sintomi.
- Questo test fornisce una diagnosi di presunta cryptosporidiosi e giardiasi. Tutti i risultati devono essere interpretati di concerto con altre informazioni cliniche e risultati di laboratorio disponibili dal medico.

XII. BIBLIOGRAFIA

1. 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.
2. 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.
3. Stuart JM, Orr HJ, Warburton FG, et al. Risk Factors for Sporadic Giardiasis: A Case-Control Study in Southwestern England. Emerg. Infect Dis. 2003; 9, 2

IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Limiti di temperatura	LOT	Codice del lotto (EXXX)	Fabbricante	Mantenere asciutto	Non sterile
i	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

Card per la reazione immunocromatografica
Gocciolatori
Flaconi con 1 mL di soluzione d'estrazione
Controllo positivo
Istruzioni d'uso

Cod. VC1023

25 pz
10 pz
25 pz
1 x 0.5 mL
1 pz

