

LEPTOSPIRA CARD

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test Immunocromatografico su CARD per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG/IgM contro *Leptospira* in siero, plasma e sangue intero

I. DESTINAZIONE D'USO

Il LEPTOSPIRA CARD è un test immunocromatografico a flusso laterale per la determinazione simultanea e la differenziazione degli anticorpi IgG e IgM specifici nel genere contro la *Leptospira interrogans*, in campioni di siero, plasma umano o sangue intero. Serve per lo screening e come aiuto nella diagnosi dell'infezione con *L. interrogans*. Ogni risultato positivo deve essere confermato da metodi alternativi.

II. SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La Leptospirosi è presente in tutto il mondo; colpisce i piccoli animali e occasionalmente l'uomo in seguito a contatto con animali o materiali organici infetti; soprattutto nelle zone con clima caldo e umido. I problemi di salute che ne conseguono possono essere di lieve entità così come di grave importanza. L'infezione nell'uomo è causata dalla *L. interrogans* appartenente al genere *Leptospira*.

In caso di infezione, le leptospire presenti nel sangue vengono neutralizzate dopo 4-7 giorni per la produzione di anticorpi anti-*L.interrogans*, inizialmente di tipo IgM.

Esistono diversi metodi per la diagnosi; uno efficace nelle prime due settimane di esposizione consiste nella coltura di del sangue, delle urine e del fluido cerebrospinale. I metodi serologici come agglutinazione microscopica (MAT), Elisa e Fluorescenza indiretta (IFATs) richiedono strumentazione sofisticata e personale addestrato.

Il LEPTOSPIRA CARD Mascia Brunelli è un test serologico, semplice che utilizza antigeni *L. interrogans* e determina simultaneamente gli anticorpi IgG e IgM specifici. Il test può essere effettuato da personale non particolarmente addestrato, non richiede strumentazione ingombrante e fornisce un risultato in 15 minuti.

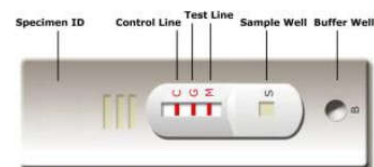
III. PRINCIPIO DEL TEST

Il kit LEPTOSPIRA CARD è un test immunocromatografico a flusso laterale. La strip all'interno della cassetta è composta da: 1) un pad colorato contenente antigeni ricombinanti di *L.interrogans* coniugati con oro colloidale (coniugato Leptospira) e IgG di topo coniugate con oro colloidale, 2) una membrana di nitrocellulosa contenente due bande test (M e G) e una banda di controllo (C). La banda M è adsorbita con anticorpo monoclonale anti-IgM umane per la determinazione di IgM anti-*L.interrogans*, la banda G è adsorbita con reagenti per la determinazione di IgG anti-*L.interrogans*, e la banda C band è adsorbita con IgG di capra anti-topo.

Quando viene dispensato un volume adeguato di campione nel pozzetto S, il campione migra per capillarità lungo la membrana. Se nel campione sono presenti anticorpi IgM contro *L.interrogans*, essi si legheranno al coniugato Leptospira. L'immunocomplesso formato viene catturato sulla membrana dall'anticorpo IgM precedentemente adsorbito, formando una banda colorata a livello della M, indicando un risultato positivo per le IgM.

Se sono presenti anticorpi IgG contro *L.interrogans*, essi si legheranno al coniugato Leptospira. L'immunocomplesso viene catturato sulla membrana dai reagenti precedentemente adsorbiti, formando una banda colorata a livello della G, indicando un risultato positivo per le IgG.

L'assenza delle bande M e G indica un risultato negativo. Il test contiene un controllo interno (banda C) che si colora per l'accoppiamento dell'immunocomplesso di IgG anti-topo di capra / IgG di topo-oro coniugato indipendentemente dalla formazione delle bande test. Altrimenti il test non è valido e deve essere ripetuto.



IV. REAGENTI E MATERIALI FORNITI

- Il kit da 10 test contiene delle buste sigillate con:
 - una card (cassetta)
 - una bustina di essiccante.
- Diluente del campione (1 flacone da 1.6 ml)
- Capillari da 5 µL (10 pezzi)
- Istruzioni per l'uso

V. MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

- Cronometro
- Pungidito.

VI. PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico *in vitro* e solo per uso professionale.
2. Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di effettuare il test. Un uso improprio potrebbe dare luogo a risultati errati.
3. Aprire la busta della card appena prima lo svolgimento del test
4. Non usare oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta della confezione.
5. Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'uso.
6. Non usare reagenti provenienti da kit diversi.



7. Non usare campioni di sangue emolizzato per il test.
8. Indossare indumenti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso. Lavarsi bene le mani dopo aver effettuato il test.
9. Non mangiare, bere o fumare durante l'analisi.
10. Manipolare tutti i campioni come fossero infettivi. Smaltire i campioni e i componenti del kit seguendo le buone regole del laboratorio.
11. Il risultato del test deve essere letto entro 15 minuti dalla deposizione del campione. Non leggere oltre il 15° minuto.
12. Non effettuare il test in stanze con forti correnti d'aria, per esempio vicino ad un ventilatore o all'aria condizionata.

VII. PREPARAZIONE DEI REAGENTI E ISTRUZIONI DI CONSERVAZIONE

Tutti i reagenti forniti sono pronti all'uso. Conservare i dispositivi test non ancora aperti a 2°C-30°C. Se conservati a 2°C-8°C, assicurarsi che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente prima di essere aperti. Il dispositivo test è stabile fino alla data di scadenza riportata sulla busta. Non congelare o esporre a temperature superiori a 30°C.

VIII. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEL CAMPIONE

Considerare il materiale di origine umana come potenzialmente infettivo e manipolare secondo le procedure standard di biosicurezza.

Plasma

1. Raccogliere i campioni di sangue in provette con tappo viola, blu o verde (contenenti rispettivamente EDTA, citrato o eparina in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.
2. Separare il plasma per centrifugazione.
3. Trasferire il plasma in un'altra provetta contrassegnata.

Siero

1. Raccogliere i campioni di sangue in una provetta con tappo rosso (senza anticoagulanti in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.
2. Attendere che il sangue coaguli.
3. Separare il siero per centrifugazione.
4. Trasferire il siero in un'altra provetta contrassegnata.

Testare i campioni il prima possibile. Conservare i campioni a +2°C - +8°C se non testati immediatamente per un massimo di 5 giorni. Per un periodo più prolungato conservarli congelati a -20°C. Evitare continui congelamenti e scongelamenti.

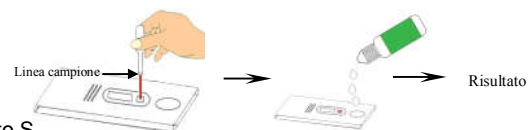
Prima di effettuare il test, scongelare e portare a temperatura ambiente lentamente i campioni, agitando delicatamente. I campioni che contengono materiale corpuscolare devono essere centrifugati. Non usare campioni torbidi, emolizzati o lipemici; potrebbero dare interferenze sul risultato.

Sangue intero

Le gocce di sangue si possono ottenere sia da puntura venosa che da puntura del dito. Non usare sangue emolizzato. I campioni di sangue intero devono essere conservati a +2 - +8°C se non testati immediatamente. Tali campioni devono essere testati entro 24 ore dal prelievo.

IX. PROCEDIMENTO

1. Portare i campioni e i reattivi a temperatura ambiente prima di eseguire il test. Se il campione era congelato, miscelare bene prima dell'uso.
2. Rimuovere il dispositivo dalla busta.
3. Identificare il dispositivo con i dati del paziente.
4. Raccogliere il campione con il capillare di plastica monouso senza oltrepassare la linea campione indicata nella figura. Tenendola verticale, dispensare una goccia (circa 5 µL), evitando la formazione di bolle, nel pozzetto S.



5 µL di campione 2 gocce di diluente del campione 15-20 minuti

Nota: Fare pratica prima del test, se non si ha familiarità con il capillare, per una migliore precisione utilizzare pipetta semiautomatica in grado di erogare 5µL di volume.

5. Immediatamente aggiungere 2 gocce (60-80 µL) di tampone Lisante nella finestra buffer well (B)
6. Leggere il risultato tra il 15° e il 20° minuto. Occorrono 20 minuti per eliminare l'eventuale sfondo colorato e confermare il negativo.

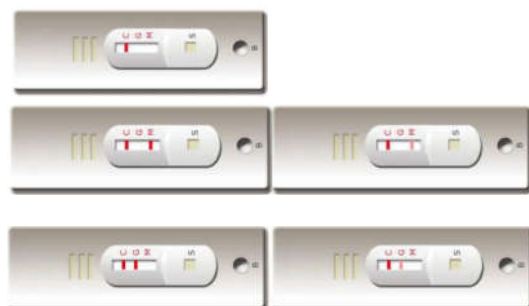
X. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

1. **NEGATIVO:** formazione della sola banda di controllo. Nel campione non c'è una quantità sufficiente di anticorpi IgM e IgG anti-*L.interrogans*. Il risultato è negativo.

2. **POSITIVO:**

formazione di due bande: C e M. Nel campione è presente una quantità di anticorpi IgM anti-*L.interrogans* rilevabile. Il risultato è positivo.

formazione di due bande: C e G. Nel campione è presente una quantità di anticorpi IgG anti-*L.interrogans* rilevabile. Il risultato è positivo



formazione di tre bande: C, M e G. Nel campione ci sono quantità rilevabili di anticorpi IgM e IgG anti- *L.interrogans*. Il risultato è positivo.

I campioni che risultano positivi dovrebbero essere confermati da metodi alternativi e da dati clinici prima della diagnosi definitiva.

3. NON VALIDO: se non compare la banda di controllo (C) il test non è valido, indipendentemente dalla presenza delle bande test (M o G), come illustrato di seguito. Ripetere il test con una nuova card



XI. CARATTERISTICHE FUNZIONALI

Accuratezza

Sono stati confrontati campioni di pazienti con sospetta Leptosirosi e di pazienti sani, utilizzando il test LEPTOSPIRA CARD e un altro test rapido in commercio. Il test Leptospira card mostra una sensibilità e una specificità del 100%.

Cross Reattività

Per la valutazione della cross-reattività sono stati raccolti campioni di pazienti con altre infezioni e sono stati testati con il Leptospira card in accordo alle procedure standard. I seguenti agenti infettivi (n=3-10) non interferiscono:

HAV	HBV	HCV	HEV	<i>H.pylori</i>
hCG	HIV	Dengue	TB	<i>T. pallidum</i>
Typhoid	ANA	HAMA	RF (up to 8,400 IU/mL)	

Interferenze

Sostanze comuni (come farmaci per il dolore, la febbre, component del sangue) possono influenzare le performance del kit Leptospira card. Questi dati sono stati ottenuti contaminando controlli standard positive e negative con queste sostanze. Nella tabella seguente sono indicate le sostanze provate, con le relative concentrazioni, per le quali non c'è interferenza.

1. Albumin 60 g/L	5. Glucose 55 mmol/L	9. Salicylic acid 4.34 mmol/L
2. Bilirubin 20 mg/dL	6. Hemoglobin 2 g/L	10. Sodium Citrate 3.8%
3. Creatinine 442 µmol/L	7. Heparin 3,000 U/L	
4. EDTA 3.4 µmol/L	8. Human IgG 1000 mg/dL	

XII. LIMITI

- Devono essere seguite attentamente tutte le istruzioni per il procedimento del test e l'interpretazione dei risultati. In caso contrario si potrebbero generare risultati non accurati.
- Il test LEPTOSPIRA CARD permette la determinazione qualitativa delle IgM e IgG anti-*L.interrogans* in siero umano, in plasma o in sangue intero. L'intensità della banda test non indica una correlazione lineare con la concentrazione degli anticorpi nel campione.
- Un risultato negativo indica assenza di quantità rilevabili di anticorpi IgM o IgG anti-*L.interrogans* nel campione. Tuttavia, un risultato negativo non preclude la possibilità di esposizione all'infezione con *L.interrogans*.
- Si può avere un risultato negativo se la quantità di IgM o IgG anti-*L.interrogans* presente nel campione è inferiore al limite di rilevabilità del test, o se gli anticorpi che vengono rilevati non sono presenti al momento del prelievo in una determinata fase della malattia.
- I risultati ottenuti con questo test dovrebbero essere interpretati solo insieme ad altri test diagnostici e supportati da dati clinici.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- Stallman GND. The International Committee on Systematic Bacteriology: Sub committee on the Taxonomy of Leptospira. Int J Syst Bacteriol 1987; 37:472.
- Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14:296-326
- Faine S, ed. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: World Health Organization, 1982.
- Cumberland PC, Everard COR, Levett PN. Assessment of the efficacy of the IgM enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. Am J Trop Med Hyg. 1999;61:731-734.
- Adler B, Murphy AM, Locarnini SA, Faine S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 1980;11:452-457.
- Appassakij H, Silpapojakul K, Wansit R, et al: Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis. Am J Trop Med Hyg 1995;52:340

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	

CONTENUTO

Leptospira Card	10 pezzi
Diluente del campione	1 x 1,6 mL
Capillari 5 µL	10 pezzi
Istruzioni per l'uso	1 pezzo

Cod. VQ85100 (10 test)

Codice Ramo CND W0105011704

