

Test rapido per la determinazione qualitativa dell'antigene di Streptococco B in tamponi della cervice uterina nella donna.

USO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, immunocromatografico, per la determinazione rapida, qualitativa, dell'antigene streptococcico B in tamponi della cervice uterina femminile, quale ausilio nella diagnosi di infezioni sostenute da ceppi di Streptococco di gruppo B.

SOMMARIO

Il gruppo B di *Streptococcus* (GBS) o *Streptococcus agalactiae* è generalmente la più frequente causa di infezioni pericolose per la vita del neonato. Tra il 5% ed il 30% di tutte le donne in gravidanza vengono infettate da GBS¹. Numerosi recenti studi scientifici hanno dimostrato che il trattamento terapeutico, durante il parto, di donne infettate da GBS riduce in modo significativo l'incidenza di sepsi causate da ^{2,3}. Pertanto lo screening per GBS è molto importante e le Autorità Statunitensi (Center for Disease Control and Prevention, CDC) enfatizzano la ricerca routinaria dello Streptococcus di Gruppo B tra la 35ma e la 37ma settimana di gravidanza. Uno studio del CDC dimostra che il monitoraggio e l'esaminazione routinaria si dimostrano al 50% più efficaci dell'uso di antibiotici nella donna in gravidanza con fattori di rischio critici. Il metodo standard di coltura batterica richiede dalle 24 alle 48 ore per la completa esecuzione, ed il risultato può non essere disponibile al più presto per un tempestivo ed efficace trattamento.

La presente metodica, su supporto immunocromatografico (CARD) mediante prelievo con tampone, si definisce come un test rapido per la determinazione qualitativa dell'antigene di Streptococco di gruppo B in campioni biologici prelevati dalla cervice uterina.

PRINCIPIO DEL METODO

Si tratta di una metodica qualitativa su membrana, rapida, con un solo passaggio analitico (*one step*), basata sul principio immunocromatografico a flusso laterale, per la ricerca dell'antigene carboidratico dello Streptococco gruppo B.

In questa procedura analitica, il campione estratto da tamponi della cervice uterina reagisce con gli anticorpi specifici diretti contro l'antigene carboidratico dello streptococco di gruppo B immobilizzati nella regione della linea del test (T) sulla membrana del supporto di reazione (CARD). Quando il campione estratto dal tampone cervicale viene inoculato nel pozzetto del campione, reagisce con anticorpi che rivestono le relative particelle disperse nella membrana. Tali complessi migrano per cromatografia attraverso la superficie della membrana del supporto di reazione e reagiscono con gli anticorpi specifici immobilizzati nella regione T. Se il campione contiene l'antigene di gruppo B, si sviluppa una linea colorata in corrispondenza della regione del test (T), ad indicare un risultato positivo. Se il campione non contiene l'antigene di gruppo B, la linea colorata non appare, indicando un risultato negativo. Quale controllo procedurale, dovrà sempre apparire una linea colorata in corrispondenza della regione del controllo (C), ad indicare che la procedura analitica è stata effettuata correttamente.

REAGENTI

La card contiene particelle rivestite con anticorpi anti-Streptococco Gr.B e anticorpi anti-Streptococco Gr.B adesi alla membrana immunocromatografica.

CONTENUTO DEL KIT

- Card reattive monouso: supporti di reazione in sacchetto individuale sigillato
- Provette di estrazione monouso
- Supporto di lavoro
- Puntali contagocce monouso
- Tamponi sterili per prelievo da cervice uterina
- Reagente 1 (Nitrito di sodio, NaNO₂ 2M)

Reagente 1 (Nitrito di sodio 2M) 	Conservare fuori dalla portata dei bambini Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Il viso. IN CASO DI INGESTIONE accompagnata da malessere: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.
---	---

- Reagente 2 (0,027M Acido citrico)
- Tampone (CONTROLLO POSITIVO- SWAB)
- Istruzioni per l'uso

MATERIALE AGGIUNTIVO

- Timer

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Il kit può essere mantenuto in frigorifero o a T. A. (2-30°C.); **non congelare** e non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sul sacchetto sigillato contenente il supporto di reazione. I supporti di reazione sono stabili solo se conservati nei relativi sacchetti sigillati.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Tutti i reagenti sono pronti all'uso

PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico professionale *in vitro*. Non utilizzare oltre la data di scadenza.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area di manipolazione dei campioni e dei reagenti.
- Manipolare tutti i campioni come se contenessero agenti infettanti. Osservare le disposizioni di legge vigenti stabilite nei confronti di rischi biologici durante tutta la procedura e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Durante la manipolazione dei campioni indossare indumenti protettivi, quali camici da laboratorio, guanti monouso e dispositivi di protezione oculare.
- I reagenti/campioni utilizzati devono essere smaltiti secondo la Normativa Vigente.
- L'umidità e la temperatura elevata possono alterare i risultati del test.
- Non utilizzare la card reattiva, qualora il sacchetto sigillato risulti danneggiato.
- Il Reagente 2 contiene acido in soluzione: qualora tale soluzione venga a contatto con la pelle o gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
- Non scambiare tra loro i tappi di ciascun reagente

RACCOLTA DEI CAMPIONI e PREPARAZIONE

- Il test può essere effettuato utilizzando esclusivamente campioni prelevati con tampone da cervice uterina della donna.
- La qualità del tampone ottenuto è di estrema importanza. La determinazione corretta della presenza o meno di Streptococchi di gruppo B richiede una vigorosa e assolutamente corretta tecnica di prelievo che garantisca la presenza di materiale cellulare piuttosto che di soli fluidi biologici
- **Per raccogliere il campione**
- Utilizzare i tamponi sterili e i reagenti inclusi nella confezione. Possono anche essere utilizzati tamponi sterili in materiale plastico.
- Prima della raccolta del campione rimuovere l'eccesso di muco dall'area endocervicale con un batuffolo di cotone ed eliminare quanto rimosso. Il tampone deve essere inserito nel canale endocervicale, oltre la giunzione squamocollonnare fino a che la maggior parte della punta non sia più visibile. Questo permette l'acquisizione di cellule epiteliali cuboidali o colonnari, che costituiscono il principale serbatoio di batteri Streptococco B. Ruotare energicamente il tampone con movimento a 360° in unica direzione (oraria o antioraria), lasciare nel canale endocervicale per 15 secondi, quindi estrarre il tampone. Evitare la contaminazione con cellule esterne o vaginali. Non utilizzare soluzione fisiologica (0.9% di cloruro di sodio) per trattare il tampone prima di aver raccolto il campione
- Se il test viene immediatamente eseguito, inserire il tampone nella provetta di estrazione
- Il test dovrebbe essere eseguito al più presto dopo la raccolta del campione. I tamponi inoculati con campione possono essere conservati in provette pulite e asciutte fino a 4-6 ore a T.A. (15-30°) o fino a 24-72 ore a 2-8°C. Non congelare. Tutti i campioni devono essere portati a T.A. prima dell'esecuzione del test.



Tutti i campioni biologici impiegati devono essere considerati **POTENZIALMENTE INFETTI** e, come tali, manipolati secondo la B.P.L.

PROCEDURA OPERATIVA (fare riferimento alla figura 1)

Portare i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso (15-30°C)

1. Togliere il supporto di reazione dall'involucro di protezione, tagliando il sacchetto lungo il bordo sigillato e porlo su una superficie piana, avendo cura di identificare ciascun supporto: risultati ottimali si ottengono se il supporto di reazione viene utilizzato entro breve tempo dall'apertura.
2. Seguire lo schema operativo da 1 a 5: tenendo il flacone del Reagente 1 in posizione verticale, dispensare 4 gocce di liquido (~240 µL) (colore rosso) in una provetta di estrazione, evitando la formazione di bolle d'aria. Tenendo il flacone del Reagente 2 in posizione verticale, dispensare 4 gocce di liquido (~160 µL) (incolore) nella medesima provetta di estrazione, evitando la formazione di bolle d'aria. Mescolare la soluzione per leggera agitazione della provetta di estrazione. L'aggiunta del reagente 2 determinerà una variazione della colorazione della miscela dal rosso al giallo.
3. Inserire il tampone contenente il campione nella provetta di estrazione contenente la miscela gialla. Agitare il tampone 15 volte nella provetta e quindi lasciarlo in estrazione per 1 minuto. Quindi, spingere il tampone contro le pareti della provetta e premere sul fondo, in modo da mantenere la maggior parte dell'estratto nella provetta. Togliere il tampone ed eliminarlo.
4. Inserire il puntale contagocce sulla provetta di estrazione. Porre il supporto di reazione su una superficie piana e pulita. Dispensare 3 gocce di miscela di estrazione (~100 µL) nel pozzetto del campione (S) presente sul supporto di reazione e far partire il timer.
5. Attendere la formazione della/e linee rosse. Leggere il risultato dopo 5 minuti esatti. **Non interpretare il risultato oltre i 10 minuti.**

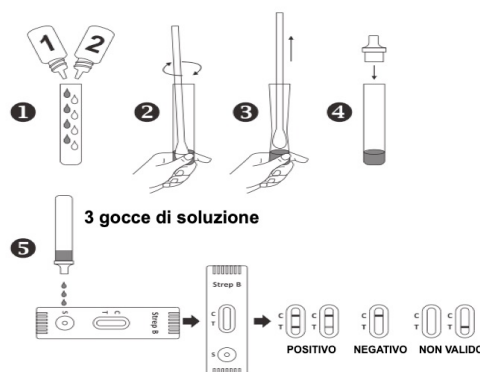


Figura 1

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Facendo riferimento alla Figura 1, si potranno ottenere tre tipi di risultati:

POSITIVO: in aggiunta alla banda del controllo (C), si evidenzia in modo netto una banda colorata nella zona di reazione positiva (T) indicando la presenza di Streptococco B nel campione. L'intensità della colorazione rossa in questa zona dipende dalla concentrazione di Streptococco B nel campione; comunque, anche la formazione di una debole banda rosata è indicativo di positività del test.

NEGATIVO: si sviluppa la banda colorata soltanto nella zona di controllo (C); non appare la banda nella zona di reazione positiva. Un risultato negativo indica che l'antigene dello Streptococco B non è presente nel campione o è presente al di sotto del limite di rilevazione.

INDETERMINATO (RIPETERE): se non si evidenziano distinte bande colorate sia nella zona del controllo che nella zona di reazione positiva, il test è da considerarsi "non valido"; si raccomanda di ripetere il test. Un volume insufficiente di campione o errori procedurali sono le cause più frequenti di risultati non validi. Qualora il problema persista dopo la ripetizione del test, non utilizzare il kit e contattare il Distributore.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Controlli della procedura sono inclusi nel metodo stesso: lo sviluppo di una linea rossa nella regione del controllo (C) rappresenta il controllo procedurale positivo, a conferma di una corretta esecuzione della metodica.

Il controllo di qualità interno positivo su tampone (swab) è presente nel kit.

LIMITAZIONI DEL METODO

- Il presente kit è stato formulato esclusivamente per determinazioni *in vitro*. Il test deve essere eseguito esclusivamente per la ricerca dell'antigene streptococcico B in tamponi cervicali della donna. Trattandosi di un metodo qualitativo per la ricerca dell'antigene streptococcico B, non è in grado di fornire indicazioni sulla concentrazione batterica.
- La metodica descritta indica, esclusivamente, la presenza di antigene streptococcico B in campioni contenenti streptococchi di gruppo B, sia vitali che non.
- Un risultato negativo dovrebbe essere confermato con metodi culturali. Un risultato negativo si può riscontrare quando la concentrazione dell'antigene streptococcico B è scarsa o al di sotto del limite di rilevabilità del metodo.
- Una raccolta eccessiva di sangue e/o muco sul tampone possono interferire nella corretta interpretazione dei risultati (falsi positivi).
- Come tutti i test di laboratorio, l'interpretazione ai fini della diagnosi deve essere supportata da tutte le altre indagini necessarie ed informazioni cliniche.

VALORI ATTESI

Il presente metodo è stato confrontato con un analogo metodo certificato e regolarmente in commercio. La correlazione tra i 2 metodi è risultata del 97,4%.

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità e Specificità

Un totale di 493 tamponi vaginali sono stati raccolti da pazienti con sintomi da secrezione vaginale. Ciascun tampone è stato seminato su piastra di agar sangue (pecora) e testato con il presente metodo. Le piastre sono state utilizzate per l'isolamento del batterio e quindi incubate a 37°C in atmosfera al 5-10% di CO₂ e dischetti di bacitracina per 18-24h. Le colture negative sono state nuovamente incubate per 18-24h. Sospette colonie GBS sono state isolate con sub-coltura e confermate con un kit diagnostico di gruppaggio mediante agglutinazione disponibile regolarmente in commercio. Dei 493 campioni totali, 366 sono stati identificati come negativi in base alla coltura e 127 positivi in base alla coltura. Questi ultimi tamponi sono stati testati utilizzando il presente metodo (vedi Tabella seguente).

Strep B Card	METODO	Coltura		Risultati totali
	Risultati	Positivi	Negativi	
	Positivi	120	7	
	Negativi	6	360	
Risultati totali		126	367	493

Sensibilità relativa: 95.2% (95%CI*:89.9%-98.2%)*

Specificità relativa: 98.1% (95%CI*:96.1%-99.2%)*

Accuratezza relativa: 97.4% (95%CI*:95.5%-98.6%)*

* Intervalli confidenza

CROSS-REATTIVITÀ

I microorganismi sottoelencati sono stati testati alla concentrazione di 1×10^7 organismi per piastra ed hanno evidenziato tutti risultato negativo per la presenza di Streptococco Gr. B quando analizzati con il presente metodo (assenza di reattività crociata). Non è stata effettuata valutazione su micobatteri.

Acinetobacter calcoaceticus	Pseudomonas aeruginosa	Proteus mirabilis
Acinetobacter spp	Neisseria meningitidis	Neisseria gonorrhoea
Enterococcus faecalis	Salmonella choleraesuis	Group C Streptococcus
Enterococcus faecium	Candida albicans	Hemophilus influenzae
Staphylococcus aureus	Proteus vulgaris	Branhamella catarrhalis
Klebsiella pneumoniae	Gardnerella vaginalis	Gruppo A Streptococcus

BIBLIOGRAFIA

- Finch, R.G., French, G.L., and Phillips, I.; Group B streptococci in the female genital tract; Br. Med. J., 1 (6020) 1245-1247, 1976
- You, M.D., Mason, E.O., Leeds, L.J., Thompson, P.K., Clark, D.J. and Gardner, S.E.; Ampicillin prevents intrapartum transmission of group B streptococcus; JAMA 241 (12) 1245-1247, 1979
- Boyer, K.M., and Goff, S.P.; Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemotaxis; N. Eng. J. Med. 314 1665-1669, 1986
- Lim, D.V., Morales, W.J., Walsh, W.J. and Kazanis, D.; Reduction of morbidity and mortality rates for neonatal group B streptococcal disease through early diagnosis and chemoprophylaxis; J. Clin. Microbiol. 23 489-492, 1986
- Monica M. Farley, Larry J. Strausbaugh; Group B Streptococcal Disease in Nonpregnant Adults, Clinical Infectious Diseases, 33, 4, 566-561, 2001

Indice dei Simboli

	Attenzione, seguire le istruzioni per l'uso		Tests per kit		Rappresentante Autorizzato
	Per uso esclusivo "in vitro"		Utilizzare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero di Lotto		N. Catalogo #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata				

Codici di Riordino:
C7727 Strep B Card

20 Test



Bio Plastic Sas - 00100 Roma