

FEVER SLIDE TEST SALMONELLA TYPHI TOTALE

 Per uso diagnostico *In Vitro*
Determinazione degli anticorpi associati alle infezioni da salmonella Typhi H e Typhi O mediante sospensione batterica colorata su vetrino e Titolazione in provetta

PRINCIPIO DEL TEST

Test di agglutinazione su slide e provetta per la determinazione qualitativa e semiquantitativa degli anticorpi associati alle infezioni da salmonella Typhi H e salmonella Typhi O. Campioni contenenti gli anticorpi specifici causano l'agglutinazione con i batteri inattivati presenti nella sospensione. La colorazione intravitale consente una più facile lettura della formazione degli agglutinati. Livelli elevati di anticorpi agglutinanti sono indicativi dell'infezione da questi microrganismi.

CAMPIONI

Siero fresco. Stabilità 7 giorni a 2-8°C o 3 mesi a -20°C. Non eseguire ripetuti congelamenti.

I campioni con presenza di fibrina devono essere centrifugati prima dell'analisi. Non usare campioni emolizzati o lipemici.

Portare a temperatura ambiente prima dell'analisi.

REAGENTI

Sospensione: Sospensione batterica inattivata e colorata intravitale in tampone glicina pH 8.2; conservanti.

Controllo Positivo Salmonelle: Soluzione di antisieri di coniglio in grado di dare un'agglutinazione evidente con le sospensioni batteriche Salmonella; conservanti e stabilizzanti.

Controllo Negativo: Soluzione proteica bovina non reattiva con la sospensione; conservanti e stabilizzanti.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Soluzione salina NaCl 9 g/L. Micropipette automatiche. Agitatore meccanico a 100 r.p.m. Micropiastra fondo a U. Incubatore 37°C o 52°C. Normale strumentazione da laboratorio.

PRECAUZIONI

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è comunque opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste per il comportamento in laboratorio.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reattivi sono pronti all'uso.

La sospensione batterica va risospesa con molta cura agitandola più volte per inversione.

Portare a temperatura ambiente prima dell'uso.

Stabilità: fino alla data di scadenza indicata in etichetta conservati a 2-8°C. Non congelare.

PROCEDIMENTO

AGGLUTINAZIONE SU SLIDE (QUALITATIVO)

| Reagenti | Campione | Controllo Positivo | Controllo Negativo |
|--------------------|---------------|--------------------|--------------------|
| Campione | 50 µl | -- | -- |
| Controllo positivo | -- | 50 µl | -- |
| Controllo negativo | -- | -- | 50 µl |
| Sospensione | 50 µl (1 gtt) | 50 µl (1 gtt) | 50 µl (1 gtt) |

Miscelare usando bastoncini a perdere distendendo omogeneamente sull'intera area del vetrino, agitare lo stesso con moto rotatorio o mediante agitatore meccanico a 80-100 r.p.m. **per 1 minuto.**

AGGLUTINAZIONE SU SLIDE (TITOLAZIONE)

| Titolo approssimativo | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 |
|-----------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Campione | 80 µl | 40 µl | 20 µl | 10 µl | 5 µl |
| Sospensione | 50 µl (1 gtt) |

Miscelare usando bastoncini a perdere distendendo omogeneamente sull'intera area del vetrino, agitare lo stesso con moto rotatorio o mediante agitatore meccanico a 80-100 r.p.m. **per 1 minuto.**

AGGLUTINAZIONE IN PROVETTA (semiquantitativo)

E' consigliabile utilizzare le sospensioni Mascia Brunelli Macro e soprattutto le sospensioni Mascia Brunelli Micro che hanno tamponi appositamente studiati per garantire un risultato delle analisi sicuro. Ugualmente viene

riportata la metodica analitica per stabilire il titolo con sospensioni slide anche se tale tecnologia possiede notevoli limiti.

1. Per ciascun campione preparare una serie di provette come indicato nel seguente schema:

| Titolo | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 | 1/640 | -- |
|------------|--------|------|------|-------|-------|-------|----------------|
| NaCl 9 g/L | 1.9 ml | 1 ml | 1 ml | 1 ml | 1 ml | 1 ml | -- |
| Campione | 100 µl | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 1 ml | 1 ml | 1 ml | 1 ml | 1 ml | 1 ml | eliminare 1 ml |

2. Preparare 1 provetta per Controllo Positivo e 1 provetta per Controllo Negativo con 0,1 ml di controllo + 0,9 ml di NaCl 9 g/L ciascuna.

3. Aggiungere 50 µl (1 gtt) di sospensione in ciascuna provetta.

4. Agitare le provette per leggero scuotimento e incubare 24 ore a 37°C.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

AGGLUTINAZIONE SU SLIDE

Esaminare macroscopicamente l'assenza o la presenza di agglutinazione **dopo 1 minuto** comparando i risultati con il controllo Positivo e Negativo.

Una agglutinazione entro il tempo stabilito indica positività. Una sospensione omogenea senza agglutinazione visibile è indice di negatività.

Per ciascun risultato positivo è consigliabile confermare il titolo con la titolazione in provetta.

I risultati ottenuti con il metodo della titolazione su Slide sono approssimativamente equivalenti a quelli ottenuti con il metodo della titolazione in provetta con diluizione del campione. Rispettivamente 1/20 - 1/40 - 1/160 - 1/320 - 1/640.

AGGLUTINAZIONE IN PROVETTA

Esaminare macroscopicamente la presenza di agglutinazione comparando i risultati con le provette di controllo Positivo e Negativo.

Una reazione flagellare (H) presenta una agglutinazione flocculante e facilmente disgregabile mentre una reazione somatica (O) è caratterizzata da agglutinazione compatta che tende ad essere difficile da disperdere.

Un'agglutinazione parziale è indice di reazione positiva. Il titolo del siero in esame è dato dalla più elevata diluizione in cui si riscontra una, sia pur debole, positività.

VALORI DI RIFERIMENTO

Per Antigene flagellare (H) Titoli $\geq 1/160$ indicano un'infezione recente.

Per Antigene somatico (O) Titoli $\geq 1/80$ indicano un'infezione recente.

In caso di risultato positivo con un basso titolo è significativo per la diagnosi verificare l'aumento del titolo fra campioni prelevati a distanza di giorni.

Se il titolo resta invariato può trattarsi di un precedente contatto o di pregressa vaccinazione.

Un singolo risultato positivo ha meno significato della dimostrazione di un titolo anticorpale in aumento o in diminuzione come prova di infezione.

Il livello "normale" di anticorpi febbrili varia notevolmente tra i diversi paesi e tra le diverse comunità. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca i propri intervalli di riferimento.

NOTA

- In alcune aree geografiche con un'alta prevalenza di anticorpi febbrili, si consiglia di diluire il campione 1:4 con NaCl 9 g/L prima di eseguire il test.
- Come per qualunque procedimento diagnostico, se i risultati sono incompatibili con la presentazione clinica, il medico dovrebbe valutare i dati ottenuti usando questo test alla luce di altre informazioni cliniche.
- Solo per uso diagnostico in vitro.

CALIBRAZIONE/CONTROLLO QUALITÀ

Non esiste alcun riferimento internazionale per la standardizzazione della sensibilità di questi reagenti. Mascia Brunelli utilizza un controllo interno che contiene

siero animale con anticorpi anti-Salmonella, titolato con reagenti commerciali di qualità certificata.

Si raccomanda di utilizzare sieri di controllo come riferimento: il controllo positivo deve mostrare una parziale o completa agglutinazione mentre il controllo negativo non deve mostrare alcuna agglutinazione.

I controlli dovrebbero essere sempre usati per poter distinguere una eventuale agglutinazione di fondo del reattivo.

I controlli devono essere utilizzati come descritto nelle procedure o in alternativa devono essere trattati come i campioni (in caso di diluizioni ecc...).

PRESTAZIONI DEL TEST

Sensibilità

Due confronti con metodo commerciale disponibile hanno fornito i seguenti risultati in una comparazione su 50 campioni dando una specificità pari a 100%:

| | | Mascia Brunelli SpA | | |
|-------------|----------------|---------------------|----------|------|
| | | POSITIVI | NEGATIVI | TOT. |
| CONCORRENZA | POSITIVI H | 11 | 0 | 11 |
| | POSITIVI O | 8 | 0 | 8 |
| | POSITIVI H e O | 2 | 0 | 2 |
| | NEGATIVI | 0 | 29 | 29 |
| | TOT. | 21 | 29 | 50 |

La sensibilità del metodo diminuisce a basse temperature. I risultati migliori si ottengono a temperature superiori a 10°C.

Interferenze

Non si sono verificate interferenze in presenza di:

| | |
|--------------------|-------------------|
| emoglobina | ≤ 1000 mg/dl |
| bilirubina | ≤ 20 mg/dl |
| lipidi | ≤ 1000 mg/dl |
| fattore reumatoide | ≤ 300 UI/ml |

Infezione recente, immunodepressione o trattamento antibiotico possono dare false negatività.

CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

Il prodotto è destinato all'utilizzo all'interno di laboratori di analisi professionali. Per un corretto smaltimento dei rifiuti fare riferimento alla normativa vigente e alle schede informative in materia di sicurezza.

CONFEZIONI

CODICE XC100052

| | |
|-------------------------------|------------|
| Sospensione S. typhi totale | 1 x 5 ml |
| Controllo positivo Salmonelle | 1 x 0.5 ml |
| Controllo negativo | 1 x 0.5 ml |
| Slide bollo bianco | 2 |
| Bastoncini | 100 |

BIBLIOGRAFIA

- Edward J Johns. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
- Coulter JBS. Current Pediatrics 1996; 6: 25-29..
- David A et al. Current Opinion in Infectious Diseases 1994; 7: 616-623.
- David R et al Current Opinion in Infectious Diseases 1993; 6: 54-62.
- Bradley D Jones. Annu Rev Immunol 1996; 14: 533-61.

LEGENDA SIMBOLI

| | |
|--|--|
| | Per esclusivo uso diagnostico in vitro |
| | Lotto di fabbricazione |
| | Codice di catalogo |
| | Intervallo di temperatura per la conservazione |
| | Data di scadenza (anno - mese) |
| | Consultare i documenti allegati |
| | Consultare le istruzioni operative |
| | Rischio Biologico |

Codice Ramo CND W0105011799

