

## FEVER SLIDE TEST PROTEUS OX19

 Per uso diagnostico *In Vitro*
**Determinazione degli anticorpi associati alle infezioni da rickettsie 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 rickettsie. Campioni contenenti l'anticorpo specifico 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 Proteus:** Soluzione di antisieri di coniglio in grado di dare un'agglutinazione evidente con le sospensioni batteriche Proteus; 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	20 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	1/80	1/160	1/320
Campione	20 µl	10 µl	5 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 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.

- 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

- 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.
- Aggiungere 50 µl (1 gtt) di sospensione in ciascuna provetta.
- 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 sospensione omogenea senza agglutinazione visibile è indice di negatività.

Una agglutinazione entro il tempo stabilito è indice di reazione positiva ma dato che un numero elevato di reazioni false positive sono state riportate in individui sani con antigeni Proteus, specialmente nel test di agglutinazione su slide, è consigliabile confermare il titolo dei campioni mediante titolazione in provetta.

Si riporta comunque la metodologia per la titolazione su slide che permette di ottenere risultati approssimativamente equivalenti a quelli ottenuti con la titolazione in provetta.

Il "Titolo approssimativo" indicato nella Titolazione su slide è stato determinato confrontando i risultati ottenuti tra i due metodi.

#### AGGLUTINAZIONE IN PROVETTA

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

Titoli  $\geq 1/160$  indicano un'infezione recente. Titoli inferiori a 1/160 non dovrebbero essere considerati significativi.

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 QUALITA'

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-Proteus, 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

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	$\leq 1000$ mg/dl
bilirubina	$\leq 20$ mg/dl
lipidi	$\leq 1000$ mg/dl
fattore reumatoide	$\leq 300$ U/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 XC100902

Sospensione Proteus OX19 slide	1 x 5 ml
Controllo positivo Proteus	1 x 0.5 ml
Controllo negativo	1 x 0.5 ml
Slide bollo bianco	2
Bastoncini	100

### BIBLIOGRAFIA

- Edward J Young. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
- Coulter JBS. Current Pediatrics 1996; 6: 25-29..
- David A et al. Currebt 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**
