

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Codice	Sospensione	Composizione
[REF] CSI087370	Febriale Antigen Multi Kit	n° 7 flaconi x 3 ml
[REF] CSI087471	M.K. <i>Brucella abortus</i>	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087486	M.K. <i>Brucella melitensis</i>	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087473	M.K. <i>Salmonella typhi</i> O	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087474	M.K. <i>Salmonella typhi</i> H	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087476	M.K. <i>Salmonella paratyphi</i> AO	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087477	M.K. <i>Salmonella paratyphi</i> AH	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087479	M.K. <i>Salmonella paratyphi</i> BO	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087480	M.K. <i>Salmonella paratyphi</i> BH	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087481	M.K. <i>Salmonella paratyphi</i> CO	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087482	M.K. <i>Salmonella paratyphi</i> CH	n° 1 flacone x 6 ml
[REF] CSI087387	M.K. Controllo Positivo Polivalente	n° 1 flacone x 2 ml
[REF] CSI087388	M.K. Controllo Negativo	n° 1 flacone x 2 ml
[REF] CSI087389	M.K. Controllo Positivo Plus	n° 1 flacone x 2 ml

DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo Medico Diagnostico in vitro per l'analisi rapida di screening su vetrino e la titolazione in micropiastra o in provetta degli anticorpi anti *Salmonella* e *Brucella* in siero o plasma umani. I risultati del test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. Solo per uso professionale.

SIGNIFICATO CLINICO

La diagnosi sierologica di malattie infettive caratterizzate da febbre persistente è basata sulla reazione di agglutinazione che avviene tra l'antigene ed eventuali anticorpi specifici presenti nel siero del paziente. Grubbaum e Widal introdussero per primi le applicazioni dell'immunologia nella pratica di laboratorio. Il loro metodo è diventato universalmente noto come "test di Widal" e determina quantitativamente gli anticorpi (agglutinine) nei sieri di pazienti con febbri tifoidee. Inoltre l'uso dei test sierologici è diventato di uso comune anche per la diagnosi di brucellosi sia nell'uomo che negli animali.

PRINCIPIO DEL METODO

Quando un siero contenente le agglutinine specifiche reagisce con l'antigene omologo, in condizioni ottimizzate e controllate, produce una agglutinazione visibile. Questa reazione può essere eseguita in provetta, su vetrino o in micropiastra. I microrganismi sono colorati per aiutare la lettura.

Conservazione e stabilità



= Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2-8°C, evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta. Non congelare. Evitare contaminazione microbica. Verifiche di stabilità ripetute su tre lotti diversi di reattivo hanno confermato una validità del reattivo per almeno 36 mesi a 2°-8°C. Una leggera variazione nella composizione dei reattivi può verificarsi da lotto a lotto, senza interferire sui risultati del test.

COMPONENTI

Le concentrazioni indicate si riferiscono ai reattivi pronti per l'uso.

Kits per gli antigeni singoli

Sospensioni: 1 fl con 6 mL di Sospensione batterica inattivata e colorata (il nome specifico è riportato sull'etichetta del flacone)
Sodio azide 0,9 g/l

Kit multiplo ([REF] CSI087370)

Sospensione *Brucella abortus*

Sospensione *Salmonella typhi* O

Sospensione *Salmonella typhi* H

Sospensione *Salmonella paratyphi* AO

Sospensione *Salmonella paratyphi* AH

Sospensione *Salmonella paratyphi* BO

Sospensione *Salmonella paratyphi* BH

Ogni flacone contiene 1x3 mL di sospensione batterica inattivata e colorata

Controllo Positivo

1x2 mL, siero positivo polivalente, pronto per l'uso.

Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Controllo Negativo

1x2 mL, siero negativo, pronto per l'uso.

Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Cards

n. 10 cards a fondo bianco con 6 settori per l'esecuzione del metodo rapido

Micropiastre

n.2 micropiastre a 96 pozzetti (fondo a U) per l'esecuzione delle titolazioni in micrometodo

Separatamente sono disponibili:

Ref. CSI087387 M.K. Controllo Positivo Polivalente

1x2 mL, siero positivo polivalente (positivo per *S. typhi* O e H, *S. paratyphi* AO ed AH, *S. paratyphi* BO e BH, *Brucella*)

Ref. CSI087388 M.K. Controllo Negativo 1x2 mL

Ref. CSI087389 M.K. Controllo Positivo Plus

1x2 mL, siero positivo polivalente (positivo per *S. paratyphi* CO e CH, *Brucella*)

Ref. C18087246 Micropiastre a 96 pozzetti 14 micropiastre

Ref. C18087300 Cartoncini fondo bianco Confezione da 50 cartoncini a 6 pozzetti

Attenzione: i prodotti che contengono Sodio Azide possono reagire con piombo e rame formando depositi esplosivi di metallo azidi. Per l'eliminazione diluire con grandi quantità di acqua.

Materiali necessari ma non forniti:

- Soluzione fisiologica
- Pipette automatiche a volume variabile
- Provette da sierologia

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

1. I reagenti e i materiali di rifiuto devono essere smaltiti conformemente alle disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o alle disposizioni nazionali o regionali.
2. Oltre alle indicazioni sui rischi relative ai componenti attivi, i reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di questi componenti è inferiore ai limiti stabiliti dal Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e aggiunte.
3. Si raccomanda di manipolare il reagente conformemente alle norme di buona prassi di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
4. Tutti i campioni umani devono essere manipolati ed eliminati come materiali potenzialmente infettivi. Componenti di origine umana sono stati testati e risultati negativi per la presenza di HbsAg, HCV e anticorpi contro l'HIV (1/2). Tuttavia, maneggiare con cautela come potenzialmente infettivo (livello di biosicurezza 2)
5. Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
6. Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
7. Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole di buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
8. Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
9. Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.
10. Devono essere utilizzate norme di laboratorio per la protezione contro le infezioni.

Segnalazione di incidenti gravi

Nel caso si verifichi un incidente grave in relazione all'utilizzo del dispositivo si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'autorità competente dello stato membro dell'Unione Europea in cui si è verificato l'incidente. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi. La segnalazione di incidenti gravi aiuta a fornire maggiori informazioni relativamente alla sicurezza del dispositivo medico diagnostico.

PROCEDIMENTO

Controllo qualità

Le sospensioni dei kit devono essere analizzate con il siero di controllo positivo e negativo. L'assenza di reazioni rispettivamente positive o negative è indice di alterazione delle sospensioni e/o dei controlli.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

I reattivi e i sieri, portati a temperatura ambiente, sono pronti per l'uso. Agitare dolcemente le sospensioni per ottenere una soluzione omogenea. Dopo l'apertura il reagente è stabile fino a data di scadenza se mantenuto nelle condizioni indicate in "Conservazione e stabilità".

RACCOLTA E CONSERVAZIONE CAMPIONI

Per il test utilizzare sieri non scomplementati. Il campione deve essere limpido, privo di particelle lipidiche e di eccessiva emolisi o di contaminazioni batteriche.

Conservare il campione a 2-8 °C se il test non viene eseguito il giorno stesso della raccolta.



Metodiche

Le sospensioni contenute nel Kit possono essere utilizzate come test di screening rapido oppure per la titolazione in macrometodo (provetta) o in micrometodo (micropiastra fondo ad U).

Metodo Rapido

Test di screening

Distribuire sull'apposito cartoncino 50µl di siero e 50µl di sospensione batterica, miscelare accuratamente e roteare il cartoncino per 2 minuti.

Reazione positiva: presenza di agglutinazione visibile

Reazione negativa: assenza di agglutinazione visibile.

Metodo in Micropiastra

1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	8A	9A	1A	11A	12A
1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10B	11B	12B
1C	2C	3C	4C	Ecc.							
1D	Ecc.										
1E											
1F											
1G											
1H											

DILUIRE PREVENTIVAMENTE I CONTROLLI POSITIVO E NEGATIVO 1:10 in fisiologica

- 1) Distribuire 90µl di fisiologica nel primo pozzetto (1A) della piastra e 50µl dal secondo pozzetto (2A) al decimo (10A).
- 2) Distribuire 50 µl di controllo positivo e negativo precedentemente diluiti nei pozzetti 11 e 12
- 3) Nel primo pozzetto (1A) aggiungere 10µl del siero in esame e miscelare pipettando ripetutamente.
- 4) Trasferire 50µl dal primo pozzetto al secondo (fino al pozzetto numero 10) e miscelare pipettando ripetutamente.
- 5) Ripetere questa operazione per i pozzetti successivi scartando gli ultimi 50µl.
- 6) Ripetere le fasi da 1 a 5 per ciascun campione/antigene in esame
- 7) **Diluire la sospensione batterica 1:15 in soluzione fisiologica** (es. 10 µl di sospensione + 140 µl. di sol. fisiologica) e distribuire 50µl di sospensione diluita in ogni pozzetto utilizzato.
- 8) Incubare over night (almeno 16 ore) a 37°C in camera umida utilizzando un termostato privo di vibrazioni.
- 9) Togliere dall'incubatore e procedere alla lettura dei risultati

Risultati

Reazione negativa (assenza di agglutinazione): cellule batteriche sedimentate formando un bottone con bordi ben definiti sul fondo del pozzetto.

Reazione positiva (agglutinazione): sospensione omogenea di cellule batteriche con totale assenza di bottone di sedimentazione.

Titolo: il reciproco della diluizione più alta che non presenta formazione di bottone di sedimentazione.

Interpretazione dei risultati

Titoli compresi tra 40 e 80 sono da considerarsi sospetti, solo titoli più elevati sono probativi per la diagnosi della malattia. Titoli significativi si possono avere su pazienti con pregressa vaccinazione antitifica.

Metodo in Provetta

DILUIRE PREVENTIVAMENTE I CONTROLLI POSITIVO E NEGATIVO 1:10 in fisiologica

- 1) Diluire 1:20 il siero in esame (80µl di siero in 1,92ml di soluzione fisiologica).
 - 2) Preparare una serie di provette per ogni antigene. Ogni set deve contenere 8 provette.
 - 3) Distribuire 2 mL di siero diluito nella prima provetta mentre nelle provette successive distribuire soltanto 1ml di soluzione fisiologica
 - 4) Trasferire 1ml dalla prima alla seconda provetta e miscelare pipettando ripetutamente.
 - 5) Ripetere questa operazione per le provette successive scartando l'ultimo ml.
 - 6) Distribuire in due provette finali 1 mL di controllo positivo ed 1 mL di controllo negativo prediluiti 1:10 in fisiologica (es. 100 µL di sospensione + 900 µL. di sol. fisiologica)
 - 7) Aggiungere ad ogni provetta **30µl** della sospensione batterica **non diluita**.
 - 8) Ripetere le operazioni 2 - 6 per ciascun antigene in esame.
- È consigliabile incubare in bagnomaria per 18 ore a 37°C.** Per una esecuzione del test più rapida è anche possibile incubare a 56°C per 4 ore.

9) Per migliorare le caratteristiche di lettura si suggerisce, al termine dell'incubazione, di mantenere le provette per 30 minuti a t.a. su un piano privo di vibrazioni.

Reazione negativa: assenza di agglutinazione con sovrantante torbido o formazione di un bottone su fondo della provetta.

Reazione positiva: presenza di agglutinazione sul fondo della provetta con sovrantante limpido.

Attenzione: per la ricerca di anticorpi anti Salmonella (reazione di Wright) può essere approfondita la morfologia dell'agglutinato tra gli antigeni somatico (O) e ciliare (H).

Antigene O: Agglutinazione di: aspetto granulare, ben visibile e stabile anche dopo leggera agitazione.

Antigene H: Agglutinazione di: aspetto flocculare, facilmente dissolvibile dopo leggera agitazione.

Titolo: corrisponde al reciproco della diluizione più alta che presenta agglutinazione visibile.

Interpretazione dei risultati: titoli compresi tra 40 e 80 sono da considerarsi sospetti, solo titoli più elevati sono probativi per la diagnosi della malattia. Titoli significativi si possono avere su pazienti con pregressa vaccinazione antitifica.

Test di validazione

Specificità

Analisi eseguite con tre diversi lotti di sospensioni batteriche di *Salmonella typhi* e *paratyphi* A, B, C ant. "O", "H" e di Brucella su campioni di sieri umani negativi hanno dato risultati ripetutamente negativi.

Precisione

Prove di ripetibilità (entro la serie) e riproducibilità (tra le serie) eseguite con tre lotti diversi di sospensioni batteriche di *Salmonella typhi* e *paratyphi* A, B, C ant. "O", "H", "O+H" e di Brucella su campioni umani e su sieri animali a titolo noto, hanno dato costantemente i risultati attesi.

Stabilità

Prove di stabilità in tempo reale eseguite su tre lotti di reattivo hanno confermato una funzionalità del reattivo integro per almeno 36 mesi a 2-8°C.

Limiti del metodo

Specialmente con la sospensione di Brucella se si osservano aggregati alle basse diluizioni si devono esaminare attentamente le diluizioni più alte per evidenziare eventuali agglutinazioni (arrivare almeno alla diluizione 1:640). Sieroagglutinazioni apparentemente negative possono essere dovute ad un eccesso di anticorpi, che alle basse diluizioni, impedisce la formazione dell'agglutinato (fenomeno di prozona). In caso di positività non significativa, l'aggiunta di siero anti - Ig umane può rivelare la presenza di anticorpi incompleti (test di Coombs) presenti soprattutto nel caso di malattia cronica. Come in tutti i test sierologici, una singola determinazione dell'anticorpo non può essere usata per la diagnosi. Il significato della presenza di un anticorpo non può andare oltre all'evidenza di una precedente esposizione all'agente eziologico. Per una corretta diagnosi è necessario rilevare un significativo aumento di titolo fra due campioni prelevati a distanza di 10-14 giorni.

Bibliografia

1. **Castaneda M.R.** Bull. WHO • 9: 399, 1953.
2. **Sonnerwirth A.C.** 1970, in: Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis • 7th ed., p. 1482, The CV Mosby Co., St. Louis.

Simboli utilizzati in IFU e Packaging	
Dispositivo medico diagnostico in	Fabbricante
Numero di catalogo	Istruzioni per l'uso
Numero del lotto	Temperatura di conservazione
Data di scadenza	Rischio Biologico

REVISIONE	DATA	MODIFICHE
G	12/2022	Modifica titoli: Scheda Tecnica //IFU e Uso Consigliato/Destinazione d'uso

