

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Formato	REF	Sospensione	Composizione
Kit 5 x 100 test	CSI087310	Antigen Set	5 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087230	Brucella	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087235	S. typhi (totale)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087234	S. typhi (antigene O)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087233	S. typhi (antigene H)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087232	S. paratyphi A (totale)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087311	S. paratyphi A (antigene O)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087312	S. paratyphi A (antigene H)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087231	S. paratyphi B (totale)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087313	S. paratyphi B (antigene O)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087314	S. paratyphi B (antigene H)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087236	S. paratyphi C (totale)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087237	S. paratyphi C (antigene O)	3 flaconi x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087238	S. paratyphi C (antigene H)	3 flaconi x 5 ml
-	CSI087388	Febbrile Controllo Negativo	1 flacone x 2 ml

DESTINAZIONE D'USO

Sospensioni batteriche colorate per la titolazione su micropiastra di anticorpi presenti nel siero umano. 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. In seguito 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. Nel Plate test il siero viene diluito a raddoppio nei pozzetti di una micropiastra. Dopo l'aggiunta dell'antigene, la reazione viene incubata per il periodo di tempo previsto e poi letta. I microrganismi sono colorati per aiutare la lettura; le reazioni positive appaiono come un strato omogeneo di cellule sul fondo del pozzetto mentre le reazioni negative si presentano come un bottone totalmente o parzialmente compatto di cellule fortemente colorate.

CONTENUTO DEL KIT E COMPOSIZIONE

Le concentrazioni si riferiscono al reattivo pronto all'uso.

Sospensione (il nome specifico è riportato sull'etichetta del flacone)
Sospensione batterica colorata ad una concentrazione ottimale per il test in piastra.
Contiene Sodio azide 0,95 g/L.

Siero di Controllo positivo (polivalente, di origine animale) Contiene Sodio azide 0,95 g/L.

*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.

4 micropiastre a 96 pozzetti fondo ad U per l'esecuzione del test.

Materiale necessario, ma non fornito

soluzione fisiologica, pipette automatiche per distribuire 10 µL, 50 µL, 90 µL

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I reagenti e i materiali di rifiuto devono essere smaltiti conformemente alle disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o alle disposizioni nazionali o regionali.
- 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.
- Si raccomanda di manipolare il reagente conformemente alle norme di buona prassi di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- 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)
- Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
- Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
- Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole di buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
- Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.
- 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.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

I reagenti sono liquidi e pronti all'uso. Evitare qualsiasi contaminazione chimica e batterica. Agitare bene i Reagenti prima dell'uso. La sospensione deve apparire uniforme e senza aggregati visibili.

Conservazione e stabilità

 = Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservare il reagente e i controlli a 2-8° C e al riparo dalla luce diretta. Non congelare. Se conservati Come sopra descritto i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Una leggera variazione nella composizione dei reattivi può verificarsi da lotto a lotto, senza influire sui risultati del test.

PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Per il test utilizzare sieri non scomplementati. I campioni possono essere conservati a 2-8°C per 48 ore prima del test. Per periodi di tempo più lunghi i sieri devono essere congelati. I sieri emolizzati, lipemici o contaminati devono essere evitati; sieri con fibrina devono essere centrifugati.

PROCEDIMENTO

Controllo Qualità

Le sospensioni dei kit devono essere analizzate con il siero di controllo positivo e con fisiologica (negativo). Qualora non si ottengano risultati rispettivamente positivi e negativi, le sospensioni e/o i sieri di controllo sono da considerarsi deteriorati.

Esecuzione del test

- Portare tutti i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso. La bassa temperatura può ridurre la sensibilità del metodo.
- Agitare accuratamente prima dell'uso per risospendere eventuali aggregati.

		FILE											
COLONNE	1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	8A	9A	10A	11A	12A	
	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10B	11B	12B	
	1C	2C	3C	4C	5C	6C	7C	8C	9C	10C	11C	12C	
	Etc												

3 - Iniziando dal primo pozzetto della prima fila (1A), diluire 10 µL di campione con 90 µL di fisiologica. 4 - Distribuire 50 µL di fisiologica negli altri pozzetti della fila, fino al 10A; nell'11° aggiungere 50 µL di controllo positivo e nel 12A, 50 µL di Controllo negativo.

- Diluire il campione trasferendo 50 µL dal pozzetto 1 al 2.
- Miscelare pipettando ripetutamente e trasferire 50 µL nel pozzetto 3 A.
- Proseguire fino al pozzetto 10 e scartare gli ultimi 50 µL.
- Ripetere le operazioni per ciascun siero in esame.
- Distribuire 50 µL di sospensione batterica in ogni pozzetto utilizzato.
- Agitare per 30 secondi con un agitatore di piastre o a mano.
- Incubare a 37° C in camera umida in termostato privo di vibrazioni per 16 ± 4 ore

Per migliorare le caratteristiche di lettura (specialmente per la Brucella) si suggerisce, al termine dell'incubazione, di mantenere le piastre per 30 minuti a t.a. su un piano privo di vibrazioni.

Risultati

Reazione positiva (agglutinazione): Strato omogeneo di cellule senza un visibile bottone di batteri sedimentati.

Reazione negativa (assenza di agglutinazione): Cellule sedimentate formanti un bottone sul fondo del pozzetto.

Talvolta con il controllo positivo è possibile osservare delle tracce di agglutinato sul fondo del pozzetto. Queste non devono essere confuse con il bottone tipico della reazione negativa

Titolo

E' il reciproco della diluizione più alta che mostri un'agglutinazione visibile.

Interpretazione dei risultati

In generale i titoli compresi tra 80 e 160 sono considerati sospetti; solo titoli più elevati sono probativi per la diagnosi della malattia. Titoli significativi si possono avere su pazienti con pregressa vaccinazione antitifica. Si deve notare che la risposta immunologica di ogni soggetto verso un agente infettivo può essere influenzata da diversi fattori.

Avvertenze

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). Siero-agglutinazioni 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 previa 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.

Caratteristiche del metodo

I risultati ottenuti con i Plate test hanno dimostrato una buona correlazione (±1 diluizione) con i titoli ottenuti con i test classici in provetta.

Test di validazione

Specificità








Analisi eseguite con tre lotti diversi di sospensioni batteriche "O", "H", "O+H", Brucella su campioni di sieri umani negativi, hanno dato risultati ripetutamente negativi.

Sensibilità

Analisi eseguite con tre lotti diversi di sospensioni batteriche "O", "H", "O+H", Brucella su campioni di sieri umani positivi, hanno dato risultati che hanno confermato il titolo del siero ottenuto con metodi di riferimento.

Stabilità

Prove di stabilità in tempo reale eseguite su tre lotti diversi di ciascuna sospensione batterica hanno confermato una funzionalità dei reagenti per almeno 36 mesi, dalla data di produzione, a 2-8 °C.

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

Bibliografia

- Robert W. Dornier et al. Clinica Chimica Acta 1987; 167: 1-21
- Frederick Wolfe et al. Arthritis and Rheumatism 1991; 34: 951-960
- Robert H Shmerling et al. The American Journal of Medicine 1991; 91: 528-534
- Koriz T N et al. Journal of Immunological Methods 1980; 32: 1-9
- Assameh S N et al. Journal of Immunological Methods 1980; 34: 205-215
- Young DS Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACCC Press, 1995.

REVISIONE	DATA	MODIFICHE
F	04/2023	Nuova emissione per adeguamento IVDR Regolamento (UE) 2017/746

ORDERING INFORMATION

Format	REF	Suspension	Composition
Kit 5 x 100 test	CSI087310	Antigen Set	5 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087230	Brucella	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087235	S. typhi (total)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087234	S. typhi (antigen O)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087233	S. typhi (antigen H)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087232	S. paratyphi A (total)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087311	S. paratyphi A (antigen O)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087312	S. paratyphi A (antigen H)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087231	S. paratyphi B (total)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087313	S. paratyphi B (antigen O)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087314	S. paratyphi B (antigen H)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087236	S. paratyphi C (total)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087237	S. paratyphi C (antigen O)	3 vials x 5 ml
Kit 3 x 100 test	CSI087238	S. paratyphi C (antigen H)	3 vials x 5 ml

INTENDED USE

Colored bacterial suspensions for titration on microplate of human serum antibodies. The results of the test must always be interpreted in conjunction with the clinical context. For professional use only.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Serological diagnosis of infectious diseases characterized by persistent fever is dependent upon demonstration of agglutination reaction between the appropriate antigen and the patient's serum containing antibodies. Grumbaum and Widal first introduced routine immunological applications. Their test has become universally known as the "Widal test" and quantitatively measures the antibodies (agglutinins) in the sera of patients with Typhoid Fever. Furthermore, the use of serological agglutination tests has become quite common in assisting in the diagnosis of brucellosis in man and other animals.

PRINCIPLE OF THE METHOD

When serum containing specific agglutinins reacts with homologous antigen under optimized conditions, it is able to cause a visible agglutination. This reaction may be performed in test tubes, on slides or in microplate. In Plate test, the two-fold diluted serum is dispensed in microplate wells and after antigen addition, the reaction is incubated for the stated time and read. The microorganisms are dyed to facilitate the reading. Positive reactions appear as a smooth mat of cells on the bottom of wells, while negative reactions show a totally or partially compact button of colored cells.

COMPONENTS

All concentrations refer to ready to use reagent:

Suspension (the specific name is reported on vial label)
Dyed bacterial suspension at optimal concentration for microplate test.
Contains Sodium azide 0,95 g/L.

Positive Control Serum (polyvalent, animal source)
Contains Sodium azide 0,95 g/L.

***Warning:** Products that contain sodium azide may react with lead and copper in plumbing to form explosive metal azides. On disposal flush with large volumes of water to prevent azide build up.

4 96-well microplates U bottom wells to perform analysis.

Other material required, but not supplied

Physiological saline, automatic pipettes to distribute 10 µL, 50 µL, 90 µL.

PRECAUTIONS and WARNINGS

- Reagents and waste materials shall be disposed of in accordance with Community waste provisions or national or regional provisions.
- Reagents may contain non-active components such as preservatives and detergents. The total concentration of these components is below the limits set out in Regulation 1272/2008 EC and subsequent amendments and additions.
- It is recommended that the reagent be handled in accordance with the rules of good laboratory practice and that appropriate personal protective equipment be used.
- Do not use the reagent if it is visibly degraded (e.g. presence of corpuscles).
- All human samples shall be handled and disposed of as potentially infectious material.
- The kit should only be used by qualified and properly trained technical personnel.
- Diagnoses shall be carried out exclusively by authorised and qualified personnel.
- Comply with national directives on occupational safety and quality assurance.
- Use equipment that complies with current regulations.

Reporting of serious incidents

In the event of a serious incident in relation to the use of the device, please inform the manufacturer (via your distributor) and the competent authority of the European Union member state where the incident occurred. For other jurisdictions, reporting must be made in accordance with regulatory requirements. Reporting serious incidents helps provide more information about the safety of the diagnostic medical device.

REAGENT PREPARATION

Reagents are liquid ready to use. Avoid any chemical or bacteriological contamination. Mix well reagents before use. Suspension must appear uniform and free of visible particles.

Preservation and Stability

 = Storage Temperature 2-8 °C

Store reagents and controls at 2-8° C avoiding direct light. Do not freeze. Under above conditions reagents are stable until expiration date indicated on the label. Slight variations in composition among batches will not affect test results.

SPECIMEN COLLECTION AND PRESERVATION

Not-inactivated sera must be used. Samples can be stored at 2-8° C for 48 h before testing. For longer time of storage samples must be frozen (-20° C). Highly hemolyzed, lipemic or contaminated samples cannot be used. Samples with the presence of fibrin should be centrifuged before testing.

PROCEDURE

Quality Control

Kit suspensions should be tested with positive control serum and with saline as negative control.

Failure to obtain a positive and negative result with the respective controls evidence a deterioration of suspension and/or controls.

Technique

- Bring reagents and materials to room temperature. Low temperature can reduce the method sensitivity.
- Swirl gently the reagent before using. Suspension must appear uniform and free from visible particles.

		ROWS											
		1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	8A	9A	10A	11A	12A
COLUMNS	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10B	11B	12B	
	1C	2C	3C	4C	5C	6C	7C	8C	9C	10C	11C	12C	
	Etc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3 - Starting from the first well of the first column (1 A), dilute 10 µL of sample with 90 µL saline.

4 - Distribute 50 µL of saline in all the wells of the row, until the 10 A; in 11 A add 50 µL of the Positive control and in 12 A, 50 µL of negative control.

5 - Dilute the sample transferring 50 µL from the first to the second well.

6 - Mix by pipetting several times and transfer 50 µL to well 3A.

7 - Follow up to well 10 A discarding the last 50 µL.

8 - Repeat this operation for each sample.

9 - Distribute 50 µL of bacterial suspension in each well.

10 - Shake for 30 seconds with a plate mixer or manually.

11 - Incubate at 37° C in a moist chamber in absence of vibrations for 16 ± 4 hours.

To improve the reading (especially for Brucella) a further incubation of 30 minutes at room temperature on a surface without vibrations is suggested.

Results

Positive Reaction (agglutination): Homogeneous layer of cells without sedimented bacteria (clear supernatant).

Negative reaction (absence of agglutination): sedimented cells forming a button on the well bottom.

Sometimes with positive control it is possible to observe traces of agglutinated bacteria on the bottom of the well. These are not to be confused with the button typical of the negative reaction.

Titer

The titer is defined as reciprocal dilution of serum showing a visible agglutination.

Results interpretation

Generally, titers in the range 80-160 are considered suspect; only higher titers are probative for the diagnosis of the disease. Significant titers may be obtained from individuals immunized with typhoid vaccine. Must be noted that immunological response for each subject against an infectious bacterial agent could be influenced by several factors.

Warnings

Prozone reactions, especially with Brucella reagent, are possible. If clumping is seen in lower dilutions, care should be taken to observe agglutination at the higher dilutions (at least until 1:640). Serum agglutination apparently negative may be due to an excess of antibodies, which, at low dilutions, prevents the formation agglutinate (prozone phenomenon). In case of not significant positivity, the addition of serum anti - human Ig may reveal the presence of incomplete antibodies (Coombs test) present in particular in the case of chronic disease. As with all serological procedures, a single antibody determination should not be used for diagnosis. The significance of antibody presence, in a single serum can provide only the evidence of prior exposure to etiologic agent. To give a correct diagnosis it is necessary to observe a significant increase of titer between samples collected 10-14 days apart.

Method features

Results obtained by Plate test showed a good correlation (±1 dilution) with titers obtained by classical tube tests.

Validation Test

Specificity








Tests carried out with three different lots of bacterial suspension "O", "H", "O+H", Brucella on human negative sera had given repeatedly negative results.

Sensitivity

Tests carried out with three different lots of bacterial suspension "O", "H", "O+H", Brucella on human positive sera, had confirmed the titer obtained with reference methods.

Stability

Stability test, in real time, was carried out on three different lots of each bacterial suspension have confirmed the functionality of the reagent for at least 36 months to 2-8°C.

Symbols used in IFU and Packaging	
 In vitro diagnostic medical device vitro	 Manufacturer
 Catalogue Number	 Instruction for use
 Lot Number	 Temperature limitation
 Expiration date	

Bibliography

- Robert W. Dörner et al. Clinica Chimica Acta 1987; 167: 1-21
- Frederick Wolfe et al. Arthritis and Rheumatism 1991; 34: 951-960
- Robert H Shmerling et al. The American Journal of Medicine 1991; 91: 528-534
- Koriz T N et al. Journal of Immunological Methods 1980; 32: 1-9
- Assameh S N et al. Journal of Immunological Methods 1980; 34: 205-215
- Young DS Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACCC Press, 1995.

REVISION	DATE	CHANGE
F	04/2023	New Issue for IVDR Regulation (UE) 2017/746 compliance

