**Mast Group Ltd.**
Mast House, Derby Road,
Bootle, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom
Tel: + 44 (0) 151 472 1444
Fax: + 44 (0) 151 944 1332
email: sales@mast-group.com
Web: www.mast-group.com

EC REP **Mast Diagnostica GmbH**
Feldstrasse 20
DE-23858 Reinfeld
Germany
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68
email: mast@mast-diagnostica.de
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**
12 rue Jean-Jacques Mention
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1
France
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22
email: info@mast-diagnostic.fr
Web: www.mast-group.com

# MAST® ASSURE FEBRILE ANTIGENS

## Uso previsto
Sospensioni di antigeni colorate per i test Widal e Weil-Felix. Per l'identificazione e l'analisi quantitativa di anticorpi specifici presenti nel siero umano a scopo epidemiologico e diagnostico nell'indagine di febbri e infezioni enteriche da Salmonella, Rickettsiae e Brucella. Sono disponibili 2 formati per la reazione di agglutinazione: in provetta o su rapid slide.

ESCLUSIVAMENTE PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

## Contenuto
I MAST ASSURE FEBRILE ANTIGENS sono sospensioni di antigeni di batteri patogeni colorate, la colorazione permette la lettura della reazione di agglutinazione. L'antigene "O" somatico ha colore blu mentre l'antigene flagellare "H" ha colore rosso e sono disponibili le seguenti sospensioni:

| Codice | | Contenuto |
|---|---|---|
| P00002 | Salmonella typhi H | 5ml |
| P00004 | Salmonella H paratyphi A | 5ml |
| P00006 | Salmonella H paratyphi B | 5ml |
| P00008 | Salmonella H paratyphi C | 5ml |
| P00010 | Salmonella typhi O | 5ml |
| P00012 | Salmonella O paratyphi A | 5ml |
| P00014 | Salmonella O paratyphi B | 5ml |
| P00016 | Salmonella O paratyphi C | 5ml |
| P00018 | Brucella abortus | 5ml |
| P00020 | Brucella melitensis | 5ml |
| P00022 | Proteus OX2 | 5ml |
| P00024 | Proteus OX19 | 5ml |
| P00026 | Proteus OXK | 5ml |
| P00030 | Positive Polyvalent Febrile Control | 1ml |
| P00032 | Negative Febrile Control | 1ml |

## Conservazione e validità
Conservare sigillati a 2 a 8°C in posizione verticale fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Una volta aperti ,i MAST ASSURE FEBRILE ANTIGENS, devono essere conservati a 2 a 8°C e possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. I reagenti potrebbero essere sensibili alla luce. **Non congelare i reagenti.**

## Precauzioni e avvertimenti
Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*. Rispettare le precauzioni di sicurezza ed impiegare tecniche asettiche. Deve essere utilizzato solo da personale di laboratorio opportunamente qualificato. Prima dell'eliminazione, sterilizzare tutti i materiali biologici pericolosi. Il materiale non monouso deve essere sterilizzato dopo l'utilizzo con i metodi appropriati. La fuoriuscita di materiale potenzialmente infetto deve essere raccolta e smaltita come indicato precedentemente. Il sito in cui è avvenuta la perdita di materiale deve essere sterilizzato con disinfettante o una soluzione di alcool al 70%. Non pipettare con la bocca. I reagenti controllo contengono siero di coniglio. I prodotti contengono sodio azide (0.095% w/w) e Thiomerosal™ (0.0095% w/w) come conservanti. Consultare la scheda di sicurezza del prodotto (disponibile a richiesta o sul sito web MAST). Non inalare o ingerire – lavare con abbondante acqua corrente. Precauzioni analitiche: Non modificare la procedura del test. Non diluire o modificare in alcun modo i reagenti. Assicurarsi che i campioni e i reagenti abbiano raggiunto la temperatura ambiente (18 a 30°C) prima di utilizzarli. Non intercambiare reagenti di kit differenti.

## Materiale richiesto ma non fornito
Attrezzature e prodotti per analisi microbiologiche di base come piccoli becker o provette di plastica, pipette, slide per la reazione di agglutinazione con fondo bianco. Bastoncini per miscelare e bagnetto termostatico a 37°C e 50°C.

## Procedura
**A. Preparazione del campione**
Utilizzare campioni di siero fresco ottenuti mediante centrifugazione di sangue coagulato. I campioni di siero possono essere conservati a 2 a 8°C per 48 ore o congelati se si desidera conservarli per un tempo superiore. Non utilizzare plasma inattivato dal calore, emolizzato, lipemico o campioni di siero contaminato.

**B. Procedura di titolazione su Rapid Slide**
1. Utilizzando una pipetta, distribuire 80µl, 40µl, 20µl, 10µl e 5µl di siero indiluito all'interno dei cerchi di 3 cm di diametro presenti sulla striscia per la reazione di agglutinazione.
2. Agitare bene il flacone contenente il reagente, quindi aggiungere una goccia di sospensione contenente l'antigene su ogni aliquota di siero posizionata sulla striscia.
3. Mischiare mediante un bastoncino e ruotare la striscia.
4. Leggere il risultato dell'agglutinazione dopo 1 minuto.

**C. Procedura di agglutinazione in provetta**
Ogni risultato positivo ottenuto su Rapid Slide dovrebbe essere confermato utilizzando la seguente tecnica:
1. Disporre 8 provette di plastica in un portaprovette
2. Utilizzando una pipetta distribuire 1.9 ml di soluzione salina 0.85% nella prima provetta, e 1.0 ml nelle restanti 7.
3. Utilizzando una pipetta mettere 0.1 ml del siero da testare indiluito nella prima provetta.
4. Mischiare bene il contenuto con una pipetta senza creare bolle d'aria.
5. Trasferire 1.0 ml della soluzione ottenuta nella seconda provetta e mischiare bene.
6. Continuare con questo metodo di doppia diluizione fino alla settima provetta e quindi gettare via 1 ml di soluzione contenuta in questa di modo che l'ottava provetta contenga solo soluzione salina e non siero.
7. Agitare il reagente contenente l'antigene prima di utilizzarlo e addizionare una goccia di questo in ciascuna delle 8 provette e mischiare bene.
8. Incubare le provette come segue:
   - Antigeni "O" di Salmonella e Proteus per 4 ore a 50°C.
   - Antigeni "H" di Salmonella per 2 ore a 50°C.
   - Antigene di Brucella per 24 ore a 37°C.
   - Antigene Vi di Salmonella typhi per 2 ore a 37°C.

   Lasciare le provette nel frigorifero tutta la notte, quindi attendere che raggiungano la temperature ambiente prima di leggere I risultati.
   NB: E' molto importante, quando le provette vengono poste nel bagnetto termostatico, che il livello dell'acqua raggiunga circa i 2/3 del livello del contenuto della provetta. Questo permetterà di mantenere una corrente di convezione all'interno della provetta ed eviterà che si riscontrino dei falsi risultati.
9. Esaminare le provette dopo il tempo di incubazione appropriato e controllare se presente agglutinazione.

## Interpretazione dei risultati
**Procedura di titolazione su Rapid Slide**
L'agglutinazione osservata nel test di agglutinazione su slide è indicativa dei risultati nel test di agglutinazione in provetta esposti nella tabella sottostante. Grazie a questa corrispondenza, la procedura di titolazione su striscia può dare un' approssimativa indicazione di quello che si otterrà dalla procedura di agglutinazione in provetta.

| **Volume** | 80µl | 40µl | 20µl | 10µl | 5µl |
|---|---|---|---|---|---|
| **Risultati** | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 |

E' importante che venga condotto il test di agglutinazione su slide su tutte le diluizioni per riconoscere e ignorare l'effetto "prozona" ( concentrazioni molto alte di anticorpi nel siero possono essere scambiate per falsi negativi ma ulteriori diluizioni possono dare risultati positivi).
**Procedura di agglutinazione in provetta**
I risultati del test devono essere letti in seguito al tempo di incubazione raccomandato per eliminare la possibilità di avere falsi risultati. I risultati negativi e il controllo contenente la sola soluzione salina non devono mostrare cambiamenti di aspetto e deve essere osservato il caratteristico "vortice" se viene dato un piccolo colpo. Le provette non devono essere agitate. I campioni risultati positivi mostreranno la chiara presenza di flocculi di agglutinazione dentro la provetta. L'ultimo campione che mostra I segni dell'agglutinazione deve essere considerato come titolo del test.

## Limitazioni di utilizzo
E' stato scoperto che molti sierotipi di Salmonella possiedono antigeni somatici dello stesso tipo. Per questo motivo l'agglutinazione di una parte degli antigeni di Salmonella con il siero umano non deve essere considerata come la dimostrazione di infezione da parte di uno specifico organismo ma piuttosto come un'infezione di un organismo con una simile struttura antigenica. I risultati del test devono essere letti in seguito al tempo di incubazione raccomandato per eliminare la possibilità di avere falsi risultati. L'ultimo campione che mostra I segni dell'agglutinazione deve essere considerato come titolo del test. Per quanto riguarda I risultati negativi, questi devono mostrare una chiara assenza di agglutinazione. Diverse popolazioni o comunità possono avere alti livelli di anticorpi residui in eccesso con valori di 1/80-1/160, questi alti livelli potrebbero essere causati da pregresse infezioni. Perchè I test abbiano significato clinico l'incremento nel titolo deve essere dimostrato con più di un singolo test. Una malattia cronica al fegato potrebbe rappresentare la causa di un incremento della concentrazione di anticorpi verso Salmonella. Campioni con un alto indice lipemico, contaminati o emolizzati devono essere scartati.

## Caratteristiche
Il test Widal eseguito mediante l'utilizzo di antigeni febbrili ha una specificità e una sensibilità del 70%. I test sierologici utilizzati nella diagnosi di infezioni da Salmonella possiedono limitazioni rilevanti, colture o appropriati saggi sono da preferire.

## Controllo di qualità
E' raccomandata l'esecuzione di test per il controllo di qualità a intervalli regolari con i controlli positivo e negativo degli antigeni febbrili per verificare che il test funzioni correttamente. Non utilizzare reagenti se sono presenti segni di deterioramento.

## Bibliografia
La pertinente bibliografia è disponibile su richiesta.


MAST è un marchio registrato