**DIESSE Diagnostica Senese SpA**
Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI
Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

# ISTRUZIONI PER L'USO

## FEBRILE ANTIGENS

**(Italiano)**

REF 21200 Febrile Antigen S. typhi O (5 mL; 100 tests)
REF 21202 Febrile Antigen S. typhi H (5 mL; 100 tests)
REF 21204 Febrile Antigen S. paratyphi A-O (5 mL; 100 tests)
REF 21206 Febrile Antigen S. paratyphi A-H (5 mL; 100 tests)
REF 21208 Febrile Antigen S. paratyphi B-O (5 mL; 100 tests)
REF 21210 Febrile Antigen S. paratyphi B-H (5 mL; 100 tests)
REF 21207 Febrile Antigen S. paratyphi C-O (5 mL; 100 tests)
REF 21209 Febrile Antigen S. paratyphi C-H (5 mL; 100 tests)
REF 21212 Febrile Antigen Brucella (5 mL; 100 tests)
REF 21216 Febrile Antigen S. Enteritidis (3 mL; 50 tests)
REF 21218 Febrile Antigen S. typhimurium (3 mL; 50 tests)
REF 21213 Febrile Antigen Brucella Abortus (5 mL; 100 tests)
REF 21214 Febrile Antigen Brucella Melitensis (5 mL; 100 tests)

### 1. UTILIZZAZIONE

**SOSPENSIONI COLORATE DI SALMONELLA E DI BRUCELLA PER LA DETERMINAZIONE NEL SIERO DI ANTICORPI AGGLUTINANTI SPECIFICI. POSSONO ESSERE EFFETTUATI SIA IL TEST DI SCREENING SU CARTONCINO SIA IL TEST SEMIQUANTITATIVO IN PROVETTA.**

### 2. INTRODUZIONE

L'indagine sierologica su pazienti che presentano febbre persistente può aiutare nella diagnosi della febbre tifoidea e della brucellosi (1,2). Tecnicamente il test si esegue osservando l'agglutinazione diretta di sospensioni batteriche causata da anticorpi specifici eventualmente presenti nel siero del paziente. Il metodo è noto come reazione di Widal-Wright e consente, testando diluizioni scalari del siero, di effettuare una titolazione semiquantitativa degli anticorpi presenti.

### 3. PRINCIPIO DEL METODO

Il siero in esame viene fatto reagire con la sospensione batterica a concentrazione ottimizzata per effettuare il test in slide. Dopo un minuto si produrrà agglutinazione visibile se sono presenti a titolo significativo anticorpi specifici diretti verso antigeni batterici. I campioni positivi possono successivamente essere titolati mediante test in tubo usando una goccia della stessa sospensione utilizzata per lo slide.

### 4. COMPOSIZIONE DEL KIT

**BACTERIAL SUSPENSION** SOSPENSIONE BATTERICA 1 flacone
Contenuto: Sospensione di batteri uccisi e colorati a concentrazione ottimizzata per effettuare il test in slide. Contiene sodio azide 0.09% come conservante.

ALTRI MATERIALI OCCORRENTI MA NON FORNITI
- REF 21250 WW POSITIVE CONTROL (1 mL)
- Slides. Usare solo slides nuovi.
- Bastoncini per la miscelazione
- Pipette con puntali disposable.
- Soluzione fisiologica.

### 5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

**I reagenti devono essere conservati a 2/8°C.**
**La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.**

| | |
|---|---|
| **Modifiche introdotte nella revisione corrente** | REF |

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

| **REAGENTE** | **CONDIZIONI** |
|---|---|
| SOSPENSIONE BATTERICA | 2 mesi a 2/8°C |

## 6. PRECAUZIONI

**SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.**

**Qualunque materiale di origine biologica deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.**

**Smaltimento dei residui: i campioni di siero e i reagenti usati devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di legge vigenti.**

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
2. I reagenti contengono Sodio Azide (0.09%) che, con piombo e rame può formare depositi altamente esplosivi di metallo azidi.
3. Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
4. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

1. **Prima dell'uso, portare tutti i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (18-30°C).** Dopo l'uso, svuotare il contagocce e riporre i reagenti a 2/8°C.
2. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza. Evitare l'inquinamento microbico dei reagenti poiché ciò riduce la validità del prodotto e può dare luogo a risultati errati.
3. Non modificare la Procedura.

## 7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

Siero fresco conservato a 2/8°C per un massimo di 7 gg. Per periodi di conservazione più lunghi congelare a -20° C, può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Impiegare subito dopo scongelamento.

## 8. PROCEDIMENTO

Portare a temperatura ambiente il reattivo ed agitare accuratamente, ma non vigorosamente, il flacone della sospensione batterica.

### * TEST DI SCREENING

Distribuire 20 µL di siero in esame entro un cerchio sul cartoncino. Aggiungere una goccia di sospensione e mescolare; ruotare il cartoncino ed osservare dopo un minuto esatto. Si avrà' agglutinazione nei campioni positivi mentre con i negativi la sospensione rimarrà omogenea.

### * TITOLAZIONE IN PROVETTA

Diluire il campione 1:20 con soluzione fisiologica (0.1 mL siero + 1.9 mL fisiologica). Prelevare 1 mL dalla prima provetta e fare delle diluizioni seriali con 1 mL di fisiologica, come riportato nello schema. Aggiungere una goccia della sospensione ad ogni provetta, agitare ed incubare a 37°C per una notte (vedi schema riportato sotto). Il bianco prova viene effettuato mescolando la sospensione con fisiologica.

| | |
|---|---|
| **Modifiche introdotte nella revisione corrente** | REF |

| **Provetta** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sol.Fis.mL.** | 1.9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| **Siero ml** | 0,1 | | | | | | |
| **Mescolare e trasferire ml** | 1 ↺ | 1 ↺ | 1 ↺ | 1 ↺ | 1 ↺ | 1 ↺ | |
| **Diluizione / Titolo** | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 | 1/640 | 1/1280 |

**N.B.**
Per le sospensioni di **Salmonella**, i risultati possono essere letti dopo una incubazione a 50°C di 4 h per l'antigene O, e dopo 2 h per l'antigene H.
Migliori risultati si ottengono se l'incubazione viene effettuata a 37°C per una notte.
Verificare la presenza di agglutinazione nelle varie provette confrontando con il bianco. L'agglutinazione con antigeni che hanno le ciglia (H) devono essere di tipo "fioccoso".

## 9. VALIDAZIONE DEL TEST
Utilizzando una goccia del siero di **Controllo Positivo** effettuare il test su vetrino; si deve avere agglutinazione evidente.

## 10. INTERPRETAZIONE DEL TEST - VALORI NORMALI
Sono considerati sospetti i titoli 1/80; titoli superiori sono diagnosticamente significativi.

## 11. LIMITAZIONI DEL TEST
Nelle agglutinazioni in slide con siero indiluito può aversi il fenomeno di prozona. Se il campione è fortemente sospetto come positivo, ripetere il test diluendo 1:8 in fisiologica. La sospensione di brucella non agglutina in presenza di anticorpi incompleti. Nel test in slide l'agglutinazione della sospensione con antigeni H può essere causata anche da anticorpi che reagiscono con il lipopolisaccaride. La migliore discriminazione si ottiene esaminando l'agglutinato fioccoso in provetta.

## 12. SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ DIAGNOSTICA
Una sperimentazione su sieri umani ottenuti da laboratori ospedalieri, il cui titolo era considerato come riferimento, ha consentito la valutazione della sensibilità delle sospensioni S. typhi O, S. typhi H, S. paratyphi BO, S. paratyphi BH. La sospensione S. typhi antigene H su 30 positivi ha dimostrato una sensibilità del 96.8% mentre la sospensione S. typhi antigene O su 51 positivi aveva 2 falsi negativi ed una sensibilità del 96.2%.
La sospensione S. paratyphi B antigene H ed antigene O è stata testata rispettivamente con 12 e 24 campioni positivi. Si è ottenuta una sensibilità del 100% e del 91.7% rispettivamente.
Le sospensioni S. paratyphi A antigene O ed antigene H sono state analizzate in parallelo ad un prodotto in commercio. Si avevano 12 sieri positivi e 3 dubbi. Il reattivo Diesse aveva un falso negativo e quindi una sensibilità del 95.0% considerando i dubbi come positivi. Con lo stesso criterio si sono analizzati 45 campioni positivi per la brucellosi. Il reattivo Diesse ha dato 2 Falsi negativi e quindi una sensibilità del 95,7%.
Sono stati inoltre analizzati sieri umani trovati negativi ad un test in commercio. Si è ottenuto il seguente risultato:

| Sospensione | N. campioni | Specificità % |
|---|---|---|
| S. typhi antigene O | 93 | 97.4 |
| S. typhi antigene H | 58 | 95.1 |
| S. paratphi B antigene O | 96 | 97.0 |
| S. paratyphi B antigene H | 93 | 95.9 |
| S. paratyphi A antigene O | 82 | 98.8 |
| S. paratyphi A antigene H | 80 | 97.6 |
| Brucella | 83 | 97.6 |

## 13. BIBLIOGRAFIA
1. P. Nicoletti in F. Pasquinelli: Diagnostica e Tecnica di Laboratorio Vol. 2 p. 319. Rosini ed. Firenze 1981.
2. Edwards P.R., Ewing W.H. Identification of Enterobacteriaceae 3rd ed. Burgess Publishing Co.
3. Cruickshank R. Medical Microbiology 11th Ed., p. 907 (1965).
4. Huddleson I.F. and Abell E. J. Inf. Dis. 42: 242 (1928).

| | |
|---|---|
| **Modifiche introdotte nella revisione corrente** | REF |

**DIESSE Diagnostica Senese SpA**
Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI
Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

**INSTRUCTIONS FOR USE**

# FEBRILE ANTIGENS

**(English)**

REF 21200 Febrile Antigen S. typhi O (5 mL; 100 tests)
REF 21202 Febrile Antigen S. typhi H (5 mL; 100 tests)
REF 21204 Febrile Antigen S. paratyphi A-O (5 mL; 100 tests)
REF 21206 Febrile Antigen S. paratyphi A-H (5 mL; 100 tests)
REF 21208 Febrile Antigen S. paratyphi B-O (5 mL; 100 tests)
REF 21210 Febrile Antigen S. paratyphi B-H (5 mL; 100 tests)
REF 21207 Febrile Antigen S. paratyphi C-O (5 mL; 100 tests)
REF 21209 Febrile Antigen S. paratyphi C-H (5 mL; 100 tests)
REF 21212 Febrile Antigen Brucella (5 mL; 100 tests)
REF 21216 Febrile Antigen S. Enteritidis (3 mL; 50 tests)
REF 21218 Febrile Antigen S. typhimurium (3 mL; 50 tests)
REF 21213 Febrile Antigen Brucella Abortus (5 mL; 100 tests)
REF 21214 Febrile Antigen Brucella Melitensis (5 mL; 100 tests)

## 1. INTENDED USE

**STAINED SALMONELLA AND BRUCELLA SUSPENSIONS TO DETECT SPECIFIC AGGLUTINATING ANTIBODIES IN SERUM. THE SCREENING TEST IN SLIDE AND THE SEMIQUANTITATIVE TEST IN TUBE CAN BE PERFORMED.**

## 2. INTRODUCTION

Serological studies of patients with persistent fever can be useful in detecting typhoid fever and brucellosis (1,2).
The test consists in the observation of a direct agglutination reaction between the bacterial suspension and the serum sample which is suspected of containing specific antibodies. The present method, known as the Widal-Wright reaction, allows a semiquantitative titration of the serum agglutinins.

## 3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The serum sample is mixed with a bacterial suspension at the optimal concentration for the slide test. After 1 minute a visible agglutination will appear if the serum contains specific antibodies against the bacteria in the suspension. Positive samples must then be tested in the tube test, using one drop of the sale suspension.

## 4. KIT COMPOSITION

**BACTERIAL SUSPENSION** BACTERIAL SUSPENSION 1 vial
Contents: Suspension of stained, killed bacteria at an optimized concentration for performance of the slide test. Contains sodium azide 0,09% as preservative.

- REF 21250 WW POSITIVE CONTROL (1 mL)
- Slides. Only use new slides.
- Mixing sticks
- Pipettes with disposable needles.
- Physiological saline.

## 5. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

**Reagents must be stored at 2/8°C.**
**The expiry date is printed on each component and on the box label.**

| | |
|---|---|
| **Changes introduced in the current revision** | REF |

Reagents have a limited stability after opening and/or preparation

| **REAGENT** | **CONDITIONS** |
|---|---|
| BACTERIAL SUSPENSION | 2 months at 2/8°C |

## 6. PRECAUTIONS

**FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY.**

**All reagents must be handled in accordance with the safety precautions adopted in the laboratory. All samples must be considered potentially infectious.**

**Waste disposal: serum samples and reagents once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.**

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens and performing the assay. Wash hands thoroughly when finished.
2. The reagents contain 0.09% Sodium Azide which can react with lead and copper in plumbing forming highly explosive deposits of metal azides.
3. If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.
4. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical precautions

1. **Allow all reagents and samples to come to room temperature (18-30°C) before use**. After use, empty the dropper and return reagents to the recommended storage temperature (2-8°C).
2. Do not use the reagents beyond the stated expiry date. Microbiological contamination of reagents must be avoided as this may reduce the life of the product and cause erroneous results.
3. Do not modify the Test Procedure.

## 7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

Fresh serum may be stored at 2/8°C for 7 days. For longer storage, freeze at –20°C, and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Use immediately after thawing.

## 8. PROCEDURE

Bring the reagent to room temperature and mix the vial of bacterial suspension carefully but not vigorously.

### * SCREENING TEST

Distribute 20 µL of serum in a circle on the slide. Add one drop of suspension and mix with the serum. Rotate the slide. Read the results after exactly 1 minute. Positive samples will give agglutination while negative samples will remain homogeneous.

### * TUBE TITRATION

Dilute the sample 1:20 with physiological saline (0.1 mL serum + 1.9 mL saline). Take 1 mL from the first tube and make serial dilutions with 1 mL of saline, as shown in the scheme. Add one drop of antigen suspension to each tube and incubate overnight at 37°C. See the scheme shown below. The blank is performed by mixing the suspension with saline

| **Tube** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Saline mL** | 1.9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| **Serum ml** | 0,1 | | | | | | |
| **Mix and transfer ml** | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| **Dilution / Titer** | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 | 1/640 | 1/1280 |

| | |
|---|---|
| **Changes introduced in the current revision** | REF |

**N.B.**
For **Salmonella** suspensions, the results can be read after an incubation of 4 h at 50°C for the O antigen, and 2 h for the H antigen.
Better results are obtained if the incubation is performed at 37°C overnight.
Check for the presence of agglutination in the different tubes, comparing with the blank tube. Antigens which have cilia (H) must present a "flaky" type of agglutination.

## 9. TEST VALIDATION
Perform the slide test using one drop of **Positive Control Serum** (available separately). Evident agglutination must be seen.

## 10. INTERPRETATION OF THE TEST – NORMAL VALUES
Titers of 1/80 are considered suspect; higher titers are diagnostically significant.

## 11. TEST LIMITATIONS
In slide agglutination using undiluted serum, the prozone phenomenon may occur. If the sample is highly suspected of being positive, repeat the test diluting 1:8 in saline. The brucella suspension does not agglutinate in the presence of incomplete antibodies.
In the slide test, agglutination of H antigens may also be caused by antibodies which react with the lipopolysaccharide. Differentiation is best obtained by examining the flaky agglutination in the tube.

## 12. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY
An experimentation performed on human sera obtained from hospital laboratories, the titers of which were taken as reference, allowed an evaluation of the sensitivity of the following suspensions: S. typhi O, S. typhi H, S. paratyphi BO, S. paratyphi BH. When S. typhi antigen H was determined on 30 positive samples, a sensitivity of 96.8% was found, while the suspension S. typhi antigen O tested on 51 positive sera gave 2 false negatives and a sensitivity of 96.2%.
S. paratyphi B antigen H and antigen O were tested with respectively 12 and 24 positive samples. Sensitivity was 100% and 91.7% respectively.
S. paratyphi A antigen O and antigen H were tested in parallel with another commercial product. 12 positive and 3 doubtful results were found. The Diesse reagent gave 1 false negative and the sensitivity was therefore 95.0%, considering the doubtful results as positive. Using the same criteria, 45 positive samples for Brucellosis were tested. Diesse gave 2 false negative results and the sensitivity was therefore 95.7%.
Human sera found negative in another commercial test were also studied. The following results were obtained:

| Suspension | No. of samples | Specificity % |
|---|---|---|
| S. typhi antigen O | 93 | 97.4 |
| S. typhi antigen H | 58 | 95.1 |
| S. paratphi B antigen O | 96 | 97.0 |
| S. paratyphi B antigen H | 93 | 95.9 |
| S. paratyphi A antigen O | 82 | 98.8 |
| S. paratyphi A antigen H | 80 | 97.6 |
| Brucella | 83 | 97.6 |

## 13. REFERENCES

1. P. Nicoletti in F. Pasquinelli: Diagnostica e Tecnica di Laboratorio Vol. 2 p. 319. Rosini ed. Firenze 1981.
2. Edwards P.R., Ewing W.H. Identification of Enterobacteriaceae 3rd ed. Burgess Publishing Co.
3. Cruickshank R. Medical Microbiology 11th Ed., p. 907 (1965).
4. Huddleson I.F. and Abell E. J. Inf. Dis. 42: 242 (1928).


| | |
|---|---|
| **Changes introduced in the current revision** | REF |

**DIESSE Diagnostica Senese SpA**
Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI
Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

# INSTRUCCIONES DE USO

## FEBRILE ANTIGENS

**(Español)**

REF 21200 Febrile Antigen S. typhi O (5 mL; 100 tests)
REF 21202 Febrile Antigen S. typhi H (5 mL; 100 tests)
REF 21204 Febrile Antigen S. paratyphi A-O (5 mL; 100 tests)
REF 21206 Febrile Antigen S. paratyphi A-H (5 mL; 100 tests)
REF 21208 Febrile Antigen S. paratyphi B-O (5 mL; 100 tests)
REF 21210 Febrile Antigen S. paratyphi B-H (5 mL; 100 tests)
REF 21207 Febrile Antigen S. paratyphi C-O (5 mL; 100 tests)
REF 21209 Febrile Antigen S. paratyphi C-H (5 mL; 100 tests)
REF 21212 Febrile Antigen Brucella (5 mL; 100 tests)
REF 21216 Febrile Antigen S. Enteritidis (3 mL; 50 tests)
REF 21218 Febrile Antigen S. typhimurium (3 mL; 50 tests)
REF 21213 Febrile Antigen Brucella Abortus (5 mL; 100 tests)
REF 21214 Febrile Antigen Brucella Melitensis (5 mL; 100 tests)

## 1. INDICACIONES

**SUSPENSIONES COLOREADAS DE SALMONELLA Y BRUCELLA PARA LA DETERMINACIÓN, EN SUERO, DE ANTICUERPOS AGLUTINANTES ESPECÍFICOS. PUEDEN SER EFECTUADAS LA PRUEBA DE SCREENING EN SLIDE Y LA PRUEBA SEMICUANTITATIVA EN CUBETA.**

## 2. RESUMEN

La investigación serológica sobre pacientes que presentan fiebre persistente puede ayudar en la diágnosis de la fiebre tifoidea y de la brucelosis (1,2). Técnicamente el test se efectúa por medio de la observación de la aglutinación directa de suspensiones bacteriales causada por anticuerpos específicos eventualmente presentes en el suero del paciente. El método es conocido como reacción de Widal-Wright y permite, probando diluiciones graduales del suero, efectuar una titulación semicuantitativa de los anticuerpos presentes.

## 3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El suero examinado se hace reaccionar con la suspensión bacteriana a concentración optimizada para efectuar el test en porta. Después de un minuto se producirá aglutinación visible si están presentes, a titulación significativa, anticuerpos específicos directos hacia antígenos bacterianos. Las muestras positivas pueden sucesivamente ser tituladas por medio de pruebas en cubeta usando una gota de la misma suspensión utilizada para el slide.

## 4. COMPONENTES DEL KIT:

**BACTERIAL SUSPENSION** SUSPENSIÓN BACTERIANA 1 frasco
Contenido: suspensión coloreada de bacterias muertas a concentración optimizada para efectuar el test en cubeta. Contiene conservante ázida sódica 0,09%.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- REF 21250 WW POSITIVE CONTROL (1 mL)
- Portas. Utilizar solamente portas nuevos.
- Palitos para mezclar
- Pipetas con puntas desechables
- Solución fisiológica

## 5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

**Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C.**
**La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.**

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la abertura y/o de la preparación.



| | |
|---|---|
| **Cambios introducidos en la revisión actual** | REF |

| **REACTIVO** | **CONDICIONES** |
|---|---|
| SUSPENSIÓN BACTERIAL | 2 meses a 2/8°C |

## 6. PRECAUCIONES DE USO

**SOLAMENTE PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.**

**Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las prácticas de seguridad comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio. Cualquier muestra debe ser considerada potencialmente infecciosa.**

**Desecho de los residuos: las muestras de suero y los reactivos se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, segun disposiciones normativas vigentes.**

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por via oral. Usar los guantes de un solo uso y la protección para los ojos al manejar las muestras y durante la prueba. Lavar las manos a fondo después de terminar el test.
2. Los reactivos contienen Ázida Sódica (0.09%) que puede reaccionar con cobre y plomo y formar ázidas metálicas potencialmente explosivas.
3. Si cualquier reactivo entra en contacto con la piel u ojos, lavar con mucha agua.
4. El derramamiento de los materiales potencialmente infecciosos se debe retirar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada tendrá que ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de se que se continúe el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar para derramamientos que contengan ácido antes de que la zona sea enjuagada. Todos los materiales utilizados para limpiar derramamientos, incluido los guantes, se deben tratar como residuo potencialmente infeccioso. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

1. **Poner todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso**. Inmediatamente después del uso vaciar el cuentagotas y poner los reactivos a 2/8°C.
2. No usar los reactivos después de la fecha de caducidad. La contaminación microbiológica de los reactivos debe ser evitada ya que esta puede acortar la vida del producto y causar resultados erróneos.
3. No modificar el método.

## 7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

Suero fresco conservado a 2/8°C hasta un máximo de 7 días. Para conservaciones más largas, congelar a -20°C. La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces. Las muestras no deben ser almacenadas en congeladores autodescongelantes. Utilizar inmediatamente después de descongelar.

## 8. PROCEDIMIENTO

Poner el reactivo a temperatura ambiente y agitar con cuidado, pero no vigorosamente, el frasco de la suspensión bacterial.

### * PRUEBA DE SCREENING

Dispensar 20 µL de suero examinado dentro de un círculo en el porta. Añadir una gota de suspensión y mezclar; girar el porta y observar después de un minuto exacto. En las muestras positivas se obtendrá aglutinación mientras que con las negativas la suspensión quedará homogénea.

### * TITULACIÓN EN CUBETA

Diluir la muestra 1:20 con solución fisiológica (0.1 mL suero + 1. 9 mL fisiológica). Recoger 1 mL desde la primera cubeta y hacer diluiciones en serie con 1 mL de solución fisiológica, como se indica en el esquema. Añadir una gota de suspensión a cada cubeta, agitar e incubar a 37°C durante una noche (ver esquema más abajo). El blanco de prueba se efectúa mezclando la suspensión con solución fisiológica.



| | |
|---|---|
| **Cambios introducidos en la revisión actual** | REF |

| **Cubeta** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sol.Fis.mL.** | 1.9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| **Suero ml** | 0,1 | | | | | | |
| **Mezclar y trasferire ml** | 1 ↺ | 1 ↺ | 1 ↺ | 1 ↺ | 1 ↺ | 1 ↺ | |
| **Diluición / Titulación** | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 | 1/640 | 1/1280 |

**N.B.**
Para las suspensiones de **Salmonela**, los resultados se pueden leer después de una incubación a 50°C de 4 h para el antígeno O, y después de 2 h para el antígeno H.
Mejores resultados se obtienen si la incubación se efectúa a 37°C durante una noche.
Verificar la presencia de aglutinación en las cubetas comparando con el blanco. La aglutinación con antígenos que tienen cilios (H) deben ser de tipo "escamoso".

## 9. VALIDACIÓN DEL TEST
Utilizando una gota de suero de **Control Positivo** efectuar el test en porta; hay que obtener aglutinación evidente.

## 10. INTERPRETACIÓN DEL TEST – VALORES NORMALES
Se consideran sospechas las titulaciones 1/80; titulaciones superiores son diagnósticamente significativas.

## 11. LIMITACIONES DEL TEST
En las aglutinaciones en porta con suero no diluido puede verificarse el fenómeno de prozona. Si se sospecha que la muestra es positiva, repetir el test diluyendo 1:8 en solución fisiológica. La suspensión de brucella no aglutina en presencia de anticuerpos incompletos. En el test en porta la aglutinación de la suspensión con antígenos H puede ser causada también por anticuerpos que reaccionan con el lipopolisacárido. La mejor discriminación se obtiene examinando el aglutinado escamoso en cubeta.

## 12. SENSIBILDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICA
Una experimentación sobre sueros humanos obtenidos desde laboratorios hospitalarios, cuya titulación era considerada como referencia, permitió la evaluación de la sensibilidad de las suspensiones S. typhi O, S. typhi H, S. paratyphi BO, S. paratyphi BH. La suspensión S. typhi antígeno H sobre 30 positivos ha demonstrado una sensibilidad del 96.8% mientras la suspensión S. typhi antígeno O sobre 51 positivos tenía 2 falsos negativos y una sensibilidad del 96.2%.
La suspensión S. paratyphi B antígeno H y antígeno O se probó respectivamente con 12 e 24 muestras positivas. Se obtuvo una sensibilidad del 100% y del 91.7% respectivamente.
Las suspensiones S. paratyphi A antígeno O y antígeno H se analizaron en paralelo con otro producto comercial. Resultaron 12 sueros positivos y 3 dudosos. El reactivo Diesse tenía un falso negativo y por eso una sensibildad del 95.0% considerando los dudosos como positivos. Con el mismo criterio se analizaron 45 muestras positivas a la brucelosis. El reactivo Diesse dió 2 Falsos negativos y por eso una sensibilidad del 95.7%.

Se analizaron además sueros humanos que habían resultado negativos a un test comercial. Se obtuvo el resultado siguiente:

| Suspensión | N. muestras | Specificidad % |
|---|---|---|
| S. typhi antígeno O | 93 | 97.4 |
| S. typhi antígeno H | 58 | 95.1 |
| S. paratphi B antígeno O | 96 | 97.0 |
| S. paratyphi B antígeno H | 93 | 95.9 |
| S. paratyphi A antígeno O | 82 | 98.8 |
| S. paratyphi A antígeno H | 80 | 97.6 |
| Brucella | 83 | 97.6 |



| | |
|---|---|
| **Cambios introducidos en la revisión actual** | REF |

## 13. BIBLIOGRAFÍA

1. P. Nicoletti in F. Pasquinelli: Diagnostica e Tecnica di Laboratorio Vol. 2 p. 319. Rosini ed. Firenze 1981.
2. Edwards P.R., Ewing W.H. Identification of Enterobacteriaceae 3rd ed. Burgess Publishing Co.
3. Cruickshank R. Medical Microbiology 11th Ed., p. 907 (1965).
4. Huddleson I.F. and Abell E. J. Inf. Dis. 42: 242 (1928).



| | |
|---|---|
| **Cambios introducidos en la revisión actual** | REF |

**DIESSE Diagnostica Senese SpA**
Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI
Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

## INSTRUÇÕES PARA UTILIZAÇÃO

# FEBRILE ANTIGENS

**(Português)**

REF 21200 Febrile Antigen S. typhi O (5 mL; 100 tests)
REF 21202 Febrile Antigen S. typhi H (5 mL; 100 tests)
REF 21204 Febrile Antigen S. paratyphi A-O (5 mL; 100 tests)
REF 21206 Febrile Antigen S. paratyphi A-H (5 mL; 100 tests)
REF 21208 Febrile Antigen S. paratyphi B-O (5 mL; 100 tests)
REF 21210 Febrile Antigen S. paratyphi B-H (5 mL; 100 tests)
REF 21207 Febrile Antigen S. paratyphi C-O (5 mL; 100 tests)
REF 21209 Febrile Antigen S. paratyphi C-H (5 mL; 100 tests)
REF 21212 Febrile Antigen Brucella (5 mL; 100 tests)
REF 21216 Febrile Antigen S. Enteritidis (3 mL; 50 tests)
REF 21218 Febrile Antigen S. typhimurium (3 mL; 50 tests)
REF 21213 Febrile Antigen Brucella Abortus (5 mL; 100 tests)
REF 21214 Febrile Antigen Brucella Melitensis (5 mL; 100 tests)

## 1. USO PRETENDIDO

**SUSPENSÕES DE SALMONELA E BRUCELA CORADAS PARA DETECÇÃO NO SORO DE ANTICORPOS AGLUTINANTES ESPECÍFICOS. PODE SER EFECTUADO O TESTE DE SCREENING EM LÂMINA E O TESTE SEMI-QUANTITATIVO EM TUBO.**

## 2. INTRODUÇÃO

Estudos serológicos de doentes com febre persistente podem ser úteis na detecção de febre tifóide e brucelose (1, 2).
O teste consiste na observação de uma reacção de aglutinação directa entre a suspensão de bactérias e a amostra de soro suspeita de conter anticorpos específicos. O presente método, conhecido como reacção de Widal-Wright, permite efectuar uma titulação semi-quantitativa dos anticorpos existentes no soro.

## 3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

A amostra de soro é misturada com uma suspensão de bactérias na concentração óptima para o teste em lâmina. Após um minuto aparecerá uma aglutinação visível se o soro contiver anticorpos específicos contra a bactéria na suspensão. As amostras positivas devem então ser tituladas com o teste em tubo usando uma gota da mesma suspensão utilizada no teste em lâmina.

## 4. COMPOSIÇÃO DO KIT

**BACTERIAL SUSPENSION** SUSPENSÃO DE BACTÉRIAS 1 frasco
Conteúdo: Suspensão de bactérias mortas e coradas a uma concentração optimizada para efectuar o teste em lâmina. Contém azida de sódio 0.09% como conservante.

OUTROS MATERAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS
- REF 21250 WW POSITIVE CONTROL (1 mL)
- Lâminas. Usar apenas lâminas novas.
- Varetas para homogeneização
- Pipetas com pontas descartáveis
- Soro fisiológico

## 5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**Os reagentes devem ser armazenados a 2/8°C.**
**A data de validade está indicada em cada componente e na etiqueta da caixa.**

Os reagentes têm uma estabilidade limitada após abertura e/ou preparação.



| | |
|---|---|
| **Alterações introduzidas na revisão atual** | REF |

| **REAGENTE** | **CONDIÇÕES** |
|---|---|
| SUSPENSÕES DE BACTÉRIAS | 2 meses a 2/8°C |

## 6. PRECAUÇÕES

**UTILIZAR APENAS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO.**

**Todos os reagentes devem ser manuseados de acordo com as normas de segurança adoptadas no laboratório. Todas as amostras devem ser consideradas potencialmente infecciosas.**

**Eliminação de resíduos: as amostras de soro e os reagentes utilizadas devem ser tratados como resíduos infecciosos e portanto, eliminados em conformidade com as disposições legais aplicáveis.**

Advertências relativas à saúde e segurança pessoais

1. Não pipetar com a boca. Utilizar luvas descartáveis e protecção para os olhos quando manusear amostras e executar o teste. Lavar completa e meticulosamente as mãos quando terminar o teste.
2. Os reagentes contêm azida de sódio 0.09%, que pode reagir com o chumbo e o cobre das canalizações formando depósitos altamente explosivos de azidas metálicas.
3. Se algum dos reagentes entrar em contacto com a pele ou os olhos, lavar abundantemente com água.
4. Eventuais derrames de materiais potencialmente infecciosos devem ser removidos imediatamente com papel absorvente e a área contaminada limpa com, por exemplo, hipoclorito de sódio 1.0% , antes de continuar com o trabalho. O hipoclorito de sódio não deve ser utilizado em derrames contendo ácido antes de a referida área ter sido limpa e seca. Os materiais utilizados para limpar derrames acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como resíduos de potencial risco biológico. Não autoclavar materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

1. **Permitir que todos os reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente (18-30°C) antes de utilizar**. Após utilização, esvaziar o conta-gotas e colocar os reagentes à temperatura de armazenamento recomendada (2-8°C).
2. Não utilizar os reagentes depois de ultrapassada a data de validade indicada. A contaminação microbiológica dos reagentes deve ser evitada pois pode reduzir a validade do produto e causar resultados erróneos.
3. Não modificar o Procedimento do Teste.

## 7. TIPO E ARMAZENAMENTO DA AMOSTRA

O soro fresco pode ser armazenado a 2/8°C por 7 dias. Para armazenamento mais prolongado, congelar a amostra a -20°C. As amostras podem ser descongelado um máximo de três vezes. Evite a utilização de congeladores autodescongeláveis para armazenamento de amostras. Utilizar imediatamente após descongelar.

## 8. PROCEDIMENTO

Deixar o reagente atingir a temperatura ambiente e agitar o frasco da suspensão bacteriana cuidadosamente mas não vigorosamente.

### * TESTE DE SCREENING

Distribuir 20 µl de soro num circulo da lâmina. Adicionar uma gota de suspensão e misturar com o soro. Rodar a lâmina. Ler os resultados após exactamente 1 minuto. As amostras positivas terão aglutinação enquanto que as amostras negativas permanecem homogéneas.

### * TITULAÇÃO EM TUBO

Diluir a amostra 1:20 com soro fisiológico (0.1 ml soro + 1.9 ml soro fisiológico). Pipetar 1 ml do primeiro tubo e fazer diluições em série com 1 ml de soro fisiológico, como indicado no esquema. Adicionar uma gota da suspensão de antigénio em cada tubo e incubar durante a noite a 37ºC. Ver o esquema abaixo apresentado. O branco é efectuado misturando a suspensão com soro fisiológico.



| | |
|---|---|
| **Alterações introduzidas na revisão atual** | REF |

| **Tubo** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Soro Fisiológico ml** | 1.9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| **Soro a testar ml** | 0,1 | | | | | | |
| **Misturar e transferir ml** | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| **Diluição / Título** | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 | 1/640 | 1/1280 |

**N.B.**
Para suspensões de **Salmonella,** a leitura dos resultados pode ser efectuada após uma incubação de 4 h a 50º C para o antigénio O, e de 2 h para o antigénio H.
Obtêm-se melhores resultados se a incubação for efectuada a 37ºC durante a noite.
Verificar a presença de aglutinação nos diferentes tubos, comparando com o tubo do branco. Antigénios com cílios (H) devem apresentar uma aglutinação do tipo "flocolar".

## 9. VALIDAÇÃO DO TESTE
Executar o teste em lâmina usando uma gota de **Soro Controlo Positivo** (disponível separadamente). Deverá ser observada uma aglutinação evidente.

## 10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE – VALORES NORMAIS
Títulos de 1/80 são considerados suspeitos; títulos superiores são diagnosticamente significativos.

## 11. LIMITAÇÕES DO TESTE
Na aglutinação em lâmina usando soro não diluído, pode ocorrer o fenómeno de prozona. Se a amostra é altamente suspeita de ser positiva, repetir o teste diluindo a amostra 1:8 em soro fisiológico. A suspensão de brucela não aglutina na presença de anticorpos incompletos.
No teste em lâmina, a aglutinação de antigénios H pode também ser causada por anticorpos que reagem com os lipopolissacarídeos. Obtém-se melhor diferenciação examinando a aglutinação flocolar no tubo.

## 12. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA
Um estudo efectuado em soros humanos obtidos em laboratórios hospitalares, cujos títulos foram considerados como referência, permitiu uma avaliação da sensibilidade das seguintes suspensões: S. typhi O, S. typhi H, S. paratyphi BO, S. paratyphi BH.
Quando a suspensão S. typhi antigénio H foi testada em 30 amostras positivas, determinou-se uma sensibilidade de 96.8%, enquanto que, a suspensão S. Typhi antigénio O testada em 51 soros positivos deu 2 falsos negativos e uma sensibilidade de 96.2%.
As suspensões de S. paratyphi B antigénio H e antigénio O foram testadas respectivamente com 12 e 24 amostras positivas. A sensibilidade foi de 100% e 91.7% respectivamente.
As suspensões de S. paratyphi A antigénio O e antigénio H foram testadas em paralelo com outro produto comercial. Foram obtidos 12 resultados positivos e 3 resultados duvidosos. Os reagentes Diesse deram 1 falso negativo e sensibilidade de 95%, considerando os resultados duvidosos como positivos. Usando o mesmo critério, foram testadas 45 amostras positivas para brucelose. Os reagentes Diesse deram 2 resutados falsos negativos e a sensibilidade foi de 95.7%.
Foram também estudados soros humanos considerados negativos com outro teste comercial. Obtiveram-se os seguintes resultados:

| Suspensão | No. de amostras | Especificidade % |
|---|---|---|
| S. typhi antigen O | 93 | 97.4 |
| S. typhi antigen H | 58 | 95.1 |
| S. paratphi B antigen O | 96 | 97.0 |
| S. paratyphi B antigen H | 93 | 95.9 |
| S. paratyphi A antigen O | 82 | 98.8 |
| S. paratyphi A antigen H | 80 | 97.6 |
| Brucella | 83 | 97.6 |



| | |
|---|---|
| **Alterações introduzidas na revisão atual** | REF |

## 13. BIBLIOGRAFIA

1. P. Nicoletti in F. Pasquinelli: Diagnostica e Tecnica di Laboratorio Vol. 2 p. 319. Rosini ed. Firenze 1981.
2. Edwards P.R., Ewing W.H. Identification of Enterobacteriaceae 3rd ed. Burgess Publishing Co.
3. Cruickshank R. Medical Microbiology 11th Ed., p. 907 (1965).
4. Huddleson I.F. and Abell E. J. Inf. Dis. 42: 242 (1928).



| | |
|---|---|
| **Alterações introduzidas na revisão atual** | REF |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
|  | EN<br>ES<br>IT | Date of manufacture<br>Fecha de fabricación<br>Data di fabbricazione | FR<br>GR<br>PT | Date de fabrication<br>Ημερομηνία Παραγωγής<br>Data de fabrico |
|  | EN<br>ES<br>IT | Use By<br>Fecha de caducidad<br>Utilizzare entro | FR<br>GR<br>PT | Utiliser jusque<br>Ημερομηνία λήξης<br>Prazo de validade |
|  | EN<br>ES<br>IT | Caution,consult accompanying documents<br>Atención,ver instrucciones de uso<br>Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso | FR<br>GR<br>PT | Attention voir notice d'instructions<br>Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα<br>Atenção, consulte a documentação incluída |
|  | EN<br>ES<br>IT | Manufacturer<br>Fabricante<br>Fabbricante | FR<br>GR<br>PT | Fabricant<br>Κατασκευαστής<br>Fabricante |
|  | EN<br>ES<br>IT | Contains sufficient for <n> tests<br>Contenido suficiente para <n> ensayos<br>Contenuto sufficiente per "n" saggi | FR<br>GR<br>PT | Contenu suffisant pour "n"tests<br>Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις<br>Conteúdo suficiente para “n” ensaios |
|  | EN<br>ES<br>IT | Temperature limitation<br>Límite de temperatura<br>Limiti di temperatura | FR<br>GR<br>PT | Limites de température<br>Περιορισμοί θερμοκρασίας<br>Limites de temperatura |
|  | EN<br>ES<br>IT | Consult Instructions for Use<br>Consulte las instrucciones de uso<br>Consultare le istruzioni per l'uso | FR<br>GR<br>PT | Consulter les instructions d'utilisation<br>Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης<br>Consulte as instruções de utilização |
|  | EN<br>ES<br>IT | Biological risks<br>Riesgo biológico<br>Rischio biologico | FR<br>GR<br>PT | Risques biologiques<br>Βιολογικοί κίνδυνοι<br>Risco biológico |
|  | EN<br>ES<br>IT | Catalogue number<br>Número de catálogo<br>Numero di catalogo | FR<br>GR<br>PT | Référence du catalogue<br>Αριθμός καταλόγου<br>Referência de catálogo |
|  | EN<br>ES<br>IT | In Vitro Diagnostic Medical Device<br>Producto sanitario para diagnóstico in vitro<br>Dispositivo medico-diagnostico in vitro | FR<br>GR<br>PT | Dispositif médical de diagnostic in vitro<br>In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν<br>Dispositivo médico para diagnóstico in vitro |
|  | EN<br>ES<br>IT | Batch code<br>Código de lote<br>Codice del lotto | FR<br>GR<br>PT | Code du lot<br>Αριθμός Παρτίδας<br>Código do lote |



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**
**Via delle Rose 10**
**53035 Monteriggioni (Siena)**
**Italy**





| | |
|---|---|
| **Alterações introduzidas na revisão atual** | REF |