

Istruzioni per l'Uso

MKL Diagnostics AB
Kung Hans Väg 3
SE-192 68 Sollentuna
Sweden



MKL Diagnostics

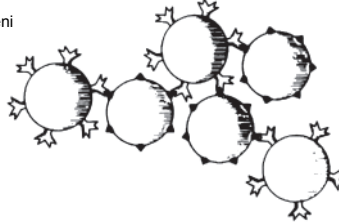
Stafilococchi ricoperti di anticorpi



Microrganismo con gli antigeni corrispondenti



Co-agglutinazione



UTILIZZO

Phadebact Haemophilus Test è concepito per l'identificazione di *Haemophilus influenzae* del tipo b e dei tipi a, c-f.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La maggior parte delle infezioni *Haemophilus influenzae* sono causate da *H. influenzae* del tipo b (1). Le varianti virulente sono quasi sempre incapsulate ed sono in generale parassiti permanenti dell'uomo e degli animali (2). *H. influenzae* gioca un ruolo eziologico importante nelle infezioni acute all'apparato respiratorio, nella meningite, nell'otite media e nella batteriemia. L'endocardite batterica subacuta e l'artrite settica sono occasionalmente causate da questi organismi. *H. influenzae* del tipo b è responsabile fino al 95% delle infezioni causate da *Haemophilus* spp. in bambini dai 6 mesi ai 3 anni di età (3). La differenziazione delle specie *Haemophilus* è comunemente basata sulla capacità emolitica degli organismi, sulle condizioni del fattore accessorio di crescita e sull'aumento di crescita in un'atmosfera di aumentata tensione di CO₂ (5-10%). Phadebact Haemophilus Test è basato sulla tecnica di co-agglutinazione che permette una rapida identificazione dei tipi classificabili *Haemophilus influenzae*, differenziando il tipo b dai tipi a, c-f usando una semplice tecnica slide.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Phadebact Haemophilus Test è un test di co-agglutinazione contenente reagente tipo b consistente di anticorpi specifici anti-tipo b, e reagente tipi a, c-f consistente di un gruppo di anticorpi specifici anti-tipo a, c-f legati alla Proteina A di stafilococchi non vitali. Questa tecnica permette alla parte Fab che è la parte dell'anticorpo che lega all'antigene, di essere direzionata verso l'esterno dando condizioni ottime per reazione. Quando un campione contenente *Haemophilus influenzae* del tipo b viene mescolato con il reagente tipo b, gli antigeni specifici sulla superficie cellulare legano agli anticorpi specifici corrispondenti. In questo modo si forma una grata di co-agglutinazione visibile a occhio nudo. Nessuna reazione deve essere ottenuta con il reagente tipi a, c-f. Similmente, quando un campione contenente *H. influenzae* dei tipi a, c-f viene mescolato con il reagente tipi a, c-f, una co-agglutinazione si verificherà e nessuna reazione sarà ottenuta con il reagente tipo b. Un campione contenente nessuno degli antigeni specifici a, b, c, d, e o f non reagirà con nessuno dei reagenti.

REAGENTI

Ogni confezione di Phadebact Haemophilus Test contiene reagenti sufficienti per 50 rilevazioni. I reagenti sono colorati di blu (blu-metilene) per facilitare l'interpretazione dei risultati.

Ingredienti reattivi

- Reagente tipo b 1 fiala
Antisiero di coniglio specifico del tipo b, legato a stafilococchi non vitali.
- Reagente tipi a, c-f 1 fiala
Un gruppo di antisieri di coniglio specifici dei tipi a, c-f, legati a stafilococchi non vitali.
PRONTI PER L'USO

Altri componenti

- Contagocce
- Slide usa e getta
- Istruzioni per l'Uso

Precauzioni

Per un uso diagnostico *in vitro*.

Attenzione! I controlli contengono Sodio azide (NaN₃) come conservante. Il Sodio azide può reagire con il piombo e il rame presenti nell'impianto idraulico formando metalli azidi altamente esplosivi. Pertanto, se si utilizza l'impianto idraulico per difarsi dei controlli, far scorrere grande quantità di acqua per prevenire accumulo di azide. Fare riferimento alle procedure di decontaminazione come illustrato dal CDC.

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono PRONTI PER L'USO.

Modalità di conservazione e scadenza

La data di scadenza è riportata sull'etichetta esterna e sulle etichette delle fiale. Si raccomanda di conservare il kit ad una temperatura di 2-8°C. I controlli devono essere protetti dal congelamento.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Si prega di riferirsi ad un libro di testo standard di microbiologia per quanto riguarda l'informazione sulla raccolta e sul trattamento dei campioni. I campioni da analizzare possono essere prelevati da qualsiasi parte del corpo in cui organismi vitali sono presenti. Se il campione deve essere trasportato al laboratorio, il tampone deve essere immerso in una soluzione di trasporto come per esempio una soluzione di Stuart. Il tampone deve raggiungere il laboratorio tra le 24 e le 48 ore. Non è necessaria l'aggiunta di nessun additivo o conservante durante il trasporto o la coltura. I campioni provenienti da pazienti sotto cura antibiotica possono contenere o pochi batteri o batteri non vitali.

PROCEDURA

Materiali forniti

Vedere sotto REAGENTI.

Materiali richiesti ma non forniti

- Coltura primaria
- Occhielli inoculanti usa e getta o equivalente.
- Orologio con indicatore di secondi facilmente leggibile

Parametri del metodo

Temperatura di reazione	Temperatura ambiente
Volume dei reagenti	Una goccia
Tempo di reazione	1 minuto

Preparazione dei campioni

Fare riferimento ai libri di testo standard di microbiologia riguardanti informazioni dettagliate sulla preparazione di colture primarie.

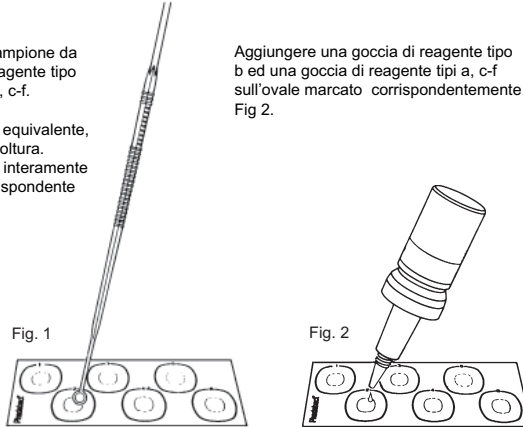
Protocollo del test

Nota! Sospendere bene i reagenti agitandoli.

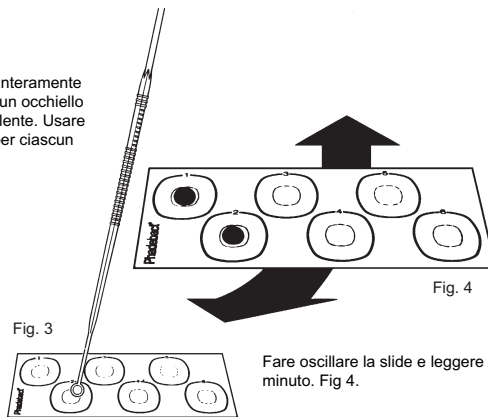
Sulla slide usa e getta, per ogni campione da testare, marcare un ovale per il reagente tipo b ed un ovale per il reagente tipi a, c-f.

Usando un occhio usa e getta o equivalente, prelevare colonie dalla piastra di coltura. Spalmare le colonie gentilmente e interamente negli ovali marcati in maniera corrispondente sulla slide. Fig. 1.

Aggiungere una goccia di reagente tipo b ed una goccia di reagente tipi a, c-f sull'ovale marcato corrispondentemente. Fig. 2.



Mescolare le gocce interamente ma gentilmente con un occhio usa e getta o equivalente. Usare un occhio nuovo per ciascun reagente. Fig. 3.



Fare oscillare la slide e leggere i risultati entro un minuto. Fig. 4.

Test diretto di fluido cerebrospinale (CSF)

Per l'identificazione di *H. influenzae* tramite test di fluido cerebrospinale si prega di riferirsi al Phadebact® CSF Test

Stabilità della miscela finale di reazione

La reazione di co-agglutinazione è stabile, ma una buona pratica di laboratorio suggerisce che il risultato va letto entro 1 minuto (notare che c'è il rischio che il seccarsi dei reagenti può essere misinterpretato come una reazione positiva).

Calibrazione

Nessuna calibrazione è necessaria.

Controllo di qualità

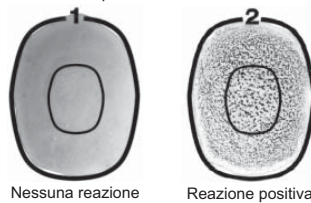
Controllo Positivo

Come controllo possono essere utilizzati famiglie identificati in laboratorio di *H. influenzae* tipo b (p. es. ATCC 10211) e *H. influenzae* tipo a, c-f (p. es. ATCC 9006 (tipo a)). Le famiglie di controllo sono trattate nella stessa maniera dei batteri sconosciuti nella procedura del test.

Controllo Negativo

L'utilizzo simultaneo di entrambi i reagenti quando si analizzano campioni sconosciuti costituisce un implicito controllo negativo poiché infezioni combinate sono rare. Se il batterio sconosciuto appartiene a *Haemophilus influenzae* del tipo b, si verifica una co-agglutinazione con il reagente tipo b. Il reagente tipi a, c-f mostrerà un risultato negativo (nessuna reazione o una reazione significativamente più debole)

Aspetto della reazione



RISULTATI

Risultato positivo, tipo b

Una reazione significativamente più forte nel reagente tipo b paragonata alla reazione nel reagente tipi a, c-f identifica l'organismo come *Haemophilus influenzae* del tipo b.

Risultato positivo, tipo a, c-f

Una reazione significativamente più forte nel reagente tipi a, c-f paragonati alla reazione nel reagente tipo b identifica l'organismo come *Haemophilus influenzae* del tipo a, c-f.

Risultato negativo

Se nessuna co-agglutinazione occorre in entrambi i reagenti, il campione o è *H. influenzae* non classificabile o c'è insufficiente materiale antigenico nel campione. Il test deve essere testato con una quantità più grande di campione.

Risultati non interpretabili

Una reazione di uguale forza in entrambi i reagenti costituisce un risultato non interpretabile. Il campione allora non è identificabile con il Phadebact Haemophilus Test. Deve essere utilizzato un altro test (biochimico) di identificazione.

LIMITI DELLA PROCEDURA

Metodi immunologici, come la co-agglutinazione, usati per l'identificazione di *H. influenzae* prevedono l'utilizzo di anticorpi diretti contro gli antigeni capsulari di *H. influenzae*. Di conseguenza quelli *Haemophilus* spp. che non possiedono una capsula non sono reattivi in un sistema di test immunologico. *H. influenzae* del tipo b ha antigeni in comune con certi tipi di *S. pneumoniae* e questi perciò reagiscono in maniera incrociata.

CARATTERISTICHE DI RENDIMENTO

Specificità e sensibilità

La specificità e la sensibilità del reagente *Haemophilus influenzae* tipo b e del reagente tipi a, c-f sono state testate usando un totale di 859 campioni che includevano colture di ceppo (5).

Tipo b Reagente Sensibilità: 98.8% (Numero testati=83) Specificità: 97.6% (Numero testati=776)
Tipi a, c-f Reagente Sensibilità: 97.3% (Numero testati=37) Specificità: 96.6% (Numero testati=822)

Specie Batteriche	Numero testati	Numero delle famiglie agglutinanti in entrambi i reagenti	Numero delle famiglie coagglutinanti nel reagente tipo b	Tipi a, c-f
<i>H. influenzae</i> , Tipo b	83	0	82	1
<i>H. influenzae</i> , Tipi a, c-f	37	0	1	36
<i>H. influenzae</i> , non (typeable)	156	5	0	0
<i>H. parainfluenzae</i>	210	0	0	6
<i>H. parahemolyticus</i>	4	0	0	0
<i>H. aphrophilus</i>	1	0	0	0
Streptococchi, gruppi A;B,C,G	54	9	0	0
Streptococchi, gruppo D	58	1	0	0
Streptococchi, alpha-emolitici	83	1	0	0
<i>S. pneumoniae</i>	93	0	0	3*
<i>N. meningitidis</i>	14	1	0	0
<i>Neisseria</i> spp	2	0	0	0
<i>Moraxella</i> spp	1	0	0	0
<i>S. aureus</i>	34	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	29	1	0	0

**S. pneumoniae* tipi 11b, 11c, e 38

GARANZIA

I dati di rendimento qui presentati sono stati ottenuti usando le procedure indicate. Qualsiasi cambiamento o modifica nelle procedure non raccomandato da MKL Diagnostics AB può affettare i risultati. In tal caso, MKL Diagnostics AB disconosce tutte le garanzie, espresse, implicite o statuarie, incluse le garanzie implicite nella commerciabilità e nella convenienza per l'uso. MKL Diagnostics AB, e i suoi rivenditori autorizzati, in tali casi non saranno considerati responsabili per qualsiasi danno diretto, indiretto o consequenziale.

Riferimenti:

1. *Weinstein, L:* Haemophilus infections. Principles of internal medicine. Ed. Harrison, T R New York (McGraw-Hill), 1977.
2. *Murray P R, Barron E Jo, Pfaller M A, Tenover F C, Tenover R H:* Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. ASM Press, Washington DC, 1995.
3. *Weinstein L:* Type b *Haemophilus influenzae* infections in adults. N Eng J Med 4, (1970), pp 221-222.
4. *Christensen P, Kahlmeter G, Jonsson S & Kronvall G:* New method for the serological grouping of streptococci with specific antibodies absorbed to Protein-A containing staphylococci. Infect Immun 7 (1973), pp 881-885.
5. Data on file, MKL Diagnostics AB.

PRODOTTI

Phadebact® COA System

Phadebact® Streptococcus Tests
Phadebact® Streptococcus Respiratory Test
Phadebact® Strep A Test
Phadebact® Strep B Test
Phadebact® Strep D Tests
Phadebact® Strep F Test
Phadebact® Strep Positive Controls
Phadebact® Pneumococcus Test
Phadebact® Haemophilus Test
Phadebact® GC Positive Controls
Phadebact® CSF Test
Phadebact® CSF Positive Controls
Phadebact® Extraction Solutions
Phadebact® Monoclonal GC Test
Phadebact® ETEC-LT Test
Phadebact® Salmonella Test
Phadebact® Staph Aureus Test

Near Patient Testing

Phadirect® Strep A
Phadirect® Rapid CRP Test

Per altre lingue: www.mkldiagnostics.com

For other languages: www.mkldiagnostics.com
Für andere Sprachen: www.mkldiagnostics.com
Para otros idiomas: www.mkldiagnostics.com
Pour d'autres langues: www.mkldiagnostics.com
Andre språk, se venligst: www.mkldiagnostics.com
Για άλλες γλώσσες: www.mkldiagnostics.com
På andra språk: www.mkldiagnostics.com