

# BACTERIAL SEROLOGY

## Micro-metodo

Determinazione Semiquantitativa  
su Micropiastra di Infezioni da Salmonella,  
Brucella e Rickettsie nel Siero  
attraverso Sospensioni Batteriche Colorate

Confezioni disponibili:

	REF	
Salmonella typhi H	REF	6200
Salmonella typhi O	REF	6201
Salmonella paratyphi A TOTAL	REF	6205
Salmonella paratyphi B TOTAL	REF	6208
Salmonella paratyphi C TOTAL	REF	6211
Brucella melitensis	REF	6213
Brucella Total / Abortus	REF	6215
Proteus OX 19	REF	6216
Proteus OX 2	REF	6217
Proteus OX K	REF	6218
Multiplo micro 7 (H, O, AH, AO, BH, BO, BRU)	REF	6219
Multiplo micro 3 (OX 19, OX 2, OX K)	REF	6220
Multiplo micro 5 (H, O, A, B, BRU)	REF	6225

### PRINCIPIO

Il test si basa sulla reazione immunologica di agglutinazione in micropiastra fra antigeni batterici (salmonelle, brucelle e proteus) e gli anticorpi, eventualmente presenti nel siero, diretti verso questi antigeni. Vengono utilizzati antigeni separati somatici e ciliari in modo da dosare solo anticorpi specifici. Le sospensioni batteriche hanno colorazione intravitale per accentuare la visibilità dell'agglutinazione. Il test sfrutta per la ricerca delle salmonellosi la reazione di Widal, per le brucellosi la reazione di Wright e per le rickettsie quella di Weil-Felix.

### REAGENTI

Composizione del kit: da 6200 a 6218 6219 6220 6225

**REAGENTE 1** 3x10 ml 7x10 ml 3x10 ml 5x10 ml

(liquido, tappo bianco) Sospensione batterica, pronta all'uso.

**REAGENTE 2** 1x0.5 ml 2x0.5 ml 2x0.5 ml 2x0.5 ml

Controllo positivo, da diluire 1:10 con fisiologica.

**REAGENTE 3** 1x1 ml 2x1 ml 2x1 ml 2x1 ml

Controllo negativo, da diluire 1:10 con fisiologica.

**MICROPIASTRE** Micropiastre 96 pozzetti

**AVVERTENZA:** i reagenti contengono sodio azide come conservante (<0,1%). Manipolare il prodotto con attenzione, evitando l'ingestione e il contatto con la pelle.

**STABILITÀ:** i reagenti sigillati sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

### CAMPIONE

Siero. Stabilità 6 giorni a 2-8°C, 1 mese a -20°C.

### PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Portare a temperatura ambiente tutti i reattivi prima dell'uso. Agitare accuratamente e delicatamente il Reagente 1 prima dell'uso. Diluire il siero in esame e i controlli 1:10 con fisiologica (es: 100 µl di siero + 900 µl di fisiologica) prima di procedere alla diluizione seriale in piastra di seguito esposta.

### PROCEDIMENTO

Distribuire 100 µl di soluzione fisiologica nei pozzetti dal 2 al 9 della piastra, relativi al siero (1+ 8 punti di titolazione) e 100 µl di soluzione fisiologica nel pozzetto 10 per il controllo sospensione.

Distribuire quindi, nei pozzetti 1 e 2, 100 µl di campione diluito 1:10, miscelare la soluzione formata nel pozzetto 2 e trasferire 100 µl di questa soluzione nel pozzetto 3, miscelare nuovamente la nuova soluzione del pozzetto 3 e continuare questo processo di trasferimento seriale fino al pozzetto 9. Eliminare 100 µl dell'ultima soluzione formata nel pozzetto 9. Distribuire quindi 100 µl di controllo negativo diluito 1:10 e controllo positivo diluito 1:10 rispettivamente nei pozzetti 11 e 12.

Aggiungere in ogni pozzetto 100µl di sospensione batterica. Agitare delicatamente la piastra per circa 30 secondi.

### TABELLA RIASSUNTIVA DELLA MICROPIASTRA

Pozz.	Fisiol. (µl)	Siero (µl)	Controllo negativo (µl)	Controllo positivo (µl)	Sosp. Batterica (µl)	Titolo
1	--	100	--	--	100	1:20
2	100	100	--	--	100	1:40
3	100	100 dal pozzetto 2	--	--	100	1:80
4	100	100 dal pozzetto 3	--	--	100	1:160
5	100	100 dal pozzetto 4	--	--	100	1:320
6	100	100 dal pozzetto 5	--	--	100	1:640
7	100	100 dal pozzetto 6	--	--	100	1:1280
8	100	100 dal pozzetto 7	--	--	100	1:2560
9	100	100 dal pozzetto 8, elimina 100	--	--	100	1:5120
10	100	--	--	--	100	Controllo sospensione
11	--	--	100	--	100	Controllo Negativo
12	--	--	--	100	100	Controllo Positivo

Incubare a 37°C per 16-18 ore. Per ottenere la migliore agglutinazione riporre la piastra lontana dalle pareti del termostato. Evitare inoltre di appoggiarla sul fondo dello stesso, appoggiandola su materiale elettricamente inerte (per esempio cartone).

Evitare qualsiasi movimento della piastra. Per amplificare la visione dei risultati porre la piastra per circa 30 minuti a 2-8 °C.

### INTERPRETAZIONE

**NEGATIVO:** sospensione omogenea senza evidente presenza di aggregati con eventuale presenza sul fondo del pozzetto di precipitato a forma circolare con bordi ben delineati.

**POSITIVO:** parziale o completa agglutinazione. Una parziale o completa agglutinazione con grado variabile di limpidezza del sovrantante è considerato positivo.

Il titolo del siero è definito dalla diluizione più grande che mostra un risultato positivo.

### VALORI DI RIFERIMENTO

Salmonelle: Titolo  $\geq 1:80$  (anticorpi O) e  $\geq 1:160$  (anticorpi H) indica infezione recente.

Brucelle: Titolo  $\geq 1:80$  indica infezione.

Proteus: Titolo: per OX19  $\geq 1:80$ , per OX2  $\geq 1:20$ , per OXK  $\geq 1:80$  indicano infezioni. I livelli di "normale" agglutinazione di questi organismi variano da paese a paese e nelle diverse comunità.

E' opportuno che ciascun laboratorio determini il proprio intervallo di riferimento.

### OSSERVAZIONI

- (\*) I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose. Leggere le Schede di sicurezza.
- Confrontare sempre i risultati con i controlli.
- Si possono utilizzare micropiastre con fondo a "U" o "V"
- Bilirubina (20 mg/dL), emoglobina (10 g/L), lipidi (10 g/L) e fattore reumatoide (300 UI/mL) non interferiscono.
- L'agglutinazione somatica (O) è fine, granulare di lenta formazione e difficilmente disgregabile. L'agglutinazione flagellare (H) è di rapida formazione e facilmente disgregabile.

### BIBLIOGRAFIA

Widal F., Bull. Mem. Soc. Hop de Paris 6,26 (1896)

Weil E. and Felix A., Wein. Klin. Woch 29,974 (1916)



Edizione 02 - Mar 2015 MS



Prodotto da: **FAR** srl

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY  
Tel. +39 045 6700870 - Fax +39 045 7157763