

SPUTAFLUID

soluzione fluidificante dell'espettorato

INTRODUZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Sputafluid è una soluzione fluidificante dell'espettorato, al fine di migliorare l'isolamento degli organismi responsabili di polmoniti croniche. Nel passato, nel settore clinico, per fluidificare la densa secrezione broncopolmonare comunemente associata a questa malattia sono stati usati ioduri, il composto Alevoire (Breon Laboratories, Inc. New York, N.Y.), e sali di sodio, ma con limitato successo (1). Un contributo significativo è da attribuire a Sheffner che nel 1963 dimostrò come il gruppo sulfidrilico (-SH) della N-acetilcisteina fosse mucolitico (2). Successivamente, Cleland dimostrò che il reagente ditiotreitolo (DTT) con il suo gruppo sulfidrilico era preferibile grazie alla riduzione completa e specifica dei ponti bisolfuro delle mucoproteine (3).

Il DTT è utilizzato come agente fluidificante nella digestione dell'espettorato prima di analizzare lo striscio e la coltura, dato che non influenza la morfologia, la crescita o lo stato di fluorescenza dei patogeni presenti nell'espettorato (4).

CONTENUTO DELLE FIALE

Il ditiotreitolo (DTT) e il tampone fosfato sono distribuiti in quantità precise nelle fiale, liofilizzati ed etichettati. Ogni fiala contiene: Ditiotreitolo 100mg

Ogni fiala è sufficiente per preparare 100ml di prodotto finale.

PREPARAZIONE

Per ricostituire una fiala di Sputafluid, aggiungere, in asepsi, un volume di acqua distillata al fine di ottenere un volume finale di 10ml. Dopo aver chiuso la fiala, agitare delicatamente per una ricostituzione completa del liofilo. La soluzione risultante deve essere limpida e priva di materiale particolato. Aggiungere il contenuto della fiala ad un volume di acqua distillata sterile così da avere un volume finale di 100ml. Il pH finale dovrà essere 7.0.

IMPIEGO

1. In una provetta da centrifuga, aggiungere al campione di espettorato un ugual volume di Sputafluid diluito.
2. Vortexare l'espettorato per 30 secondi.
3. Lasciare la miscela a temperatura ambiente per 15 minuti.

Un tempo prolungato di esposizione a temperatura ambiente della soluzione non inibisce la crescita della flora presente nel campione.

Per organismi predominanti:

1. Centrifugare la miscela per 5 minuti a 1500rpm per far sedimentare le cellule.
2. Eliminare il supernatante e risospendere il sedimento in un piccola quantità di Sputafluid. La quantità di diluente usato dipende dal volume del sedimento e dalla concentrazione finale che si vuole ottenere. Per la conta delle colonie è consigliata una diluizione 1:100 con un inoculo di 0.01ml. Per una conta batterica più accurata sono necessarie diluizioni seriali.

Per Bacilli acido-resistenti:

1. Decontaminare il campione sospendendolo in 5-10ml di 1% NaOH (è richiesta un'accurata omogeneizzazione nel primo minuto).
2. Centrifugare la sospensione per 15 minuti a 3000rpm ed eliminare il supernatante.
3. Lavare il sedimento per due volte con 10ml di Sputafluid.
4. Dopo l'ultima centrifugata, risospendere il sedimento in 0.5ml di Sputafluid diluito.
5. Coltivare su terreni specifici per isolare i bacilli acido-resistenti.

AVVERTENZE

1. Sputafluid è disponibile solo per utilizzo *in vitro* e non è in nessun modo inteso per uso terapeutico o di profilassi.
2. Nel maneggiare i materiali è opportuno seguire le buone pratiche di laboratorio (GLP), e considerare tutti i campioni clinici testati come materiale con un potenziale rischio biologico.

CONSERVAZIONE

Sputafluid deve essere conservato tra 4° e 8°C. Se conservato secondo le condizioni appena descritte, il prodotto può essere usato fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.

BIBLIOGRAFIA

1. Hirsh, S.R., Zastrow, J.E., and Kory, R.C. 1969. Sputum liquefying agents: a comparative "in vitro evaluation". J. Lab. & Clin. Med. 74: 346-352.
2. Shah, R.J. and Dye, W.E. 1966. Use of dithiothreitol to replace n-acetyl-L-cysteine for routine sputum digestion-decontamination for the culture of mycobacteria. Am. Rev. Respir. Dis. 94: 454.
3. Cleland, W.W. 1964. Dithiothreitol, a new protective reagent for SH groups. Biochemistry. 3: 480-482.
4. Reep, B.R., Kaplan, P.H., and Kaplan, W. 1972. The use of n-acetyl-L-cysteine and dithiothreitol to process sputa for mycological and fluorescent antibody examination. Health Lab Sci. 9: 118-124.

CONFEZIONE

224001 Sputafluid 100 mg x flacone, 4 flaconi per scatola.

