

## SALMONELLA Ag

Per uso diagnostico *in Vitro***Test immunocromatografico rapido per la determinazione qualitativa di *Salmonella spp.* nelle feci e nel cibo**

### I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

Salmonella Ag è un test rapido su card per la determinazione qualitativa di *Salmonella spp.* nelle feci, utile nella diagnosi di salmonellosi nelle persone e in campioni di cibo per evitare il loro consumo e la salmonellosi.

Le sindromi cliniche nell'uomo causate dalla infezione con *Salmonella enterica* sono classificate in Febbre Tifoide causata da *S. enterica serovars typhi* e *paratyphi* e una serie di sindromi cliniche, inclusa la diarrea, causata da *salmonellae* (NTS) non tifoide di cui ne esistono 2500 varietà. La febbre tifoide è una malattia sistemica infettiva altamente adattata all'uomo, presente in adulti e bambini che mostrano un'associazione all'immunodepressione. Mentre NTS ha un ampio spettro di ospiti vertebrati e un'epidemiologia che spesso coinvolge animali allevati, nei Paesi industrializzati di solito si presenta come gastroenterite. Una malattia severa ed invasiva dovuta a NTS è di solito associata ad immunosoppressione, comune in adulti infetti da HIV. NTS è una malattia invasiva comune anche in giovani bambini Africani con comorbidità come anemia severa, malnutrizione e HIV.

Salmonella Ag è un test rapido per la determinazione diretta di *Salmonella spp.* in campioni fecali e su alimenti dopo arricchimento (carne, cibo etc..)

### II. PRINCIPIO DEL TEST

Salmonella Ag è un metodo sandwich immunocromatografico per la determinazione qualitativa di *Salmonella spp.* nelle feci e in campioni alimentari. Impiega anticorpi coniugati con latex colorato, specifici per gli antigeni *Salmonella spp.* e anticorpi su fase solida.

Durante l'esame, il campione reagisce con le particelle di lattice coattate con l'anticorpo *Salmonella spp.* che si trovano nell'area test. La miscela si muove verso l'alto lungo la membrana per azione capillare. In caso di positività gli anticorpi specifici presenti sulla membrana cattureranno il complesso colorato. Il campione continua la migrazione lungo la membrana filtrante fino alla zona di controllo, dove è legato anche un anticorpo generico capace di legare l'anticorpo marcato con latex, dando luogo ad una banda verde che dimostra il corretto funzionamento dei reattivi. La presenza della banda verde serve per 1) verificare che è stato aggiunto sufficiente volume, 2) il flusso era appropriato e 3) come controllo interno per i reagenti.

### III. REAGENTI E MATERIALI

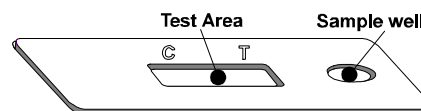
#### Ogni kit contiene:

1. N.10 card Salmonella Ag,
2. N.1 Flacone con 8 mL di Tampone d'estrazione.
3. N.1 Istruzioni per l'uso.

#### Reagenti e necessario ma non fornito:

Dispositivi per la raccolta dei campioni; Guanti monouso; Cronometro; Provette/fiale da saggio; Pipette di plastica.

*Salmonella* Enrichment media: Rappaport-Vassiliadis (RVS brodo) e pre-enrichment media: Peptone Tampone, Stomacher, e sacche per Stomacher, Incubatore +37°C e +41.5°C. Acqua purificata.



### IV. PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico *in vitro* e per solo uso professionale.
- Non usare oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.
- Le card devono restare sigillate fino al momento dell'uso.
- Non utilizzare le card se la confezione è danneggiata.
- Seguire le buone regole di laboratorio, indossando occhiali protettivi, usando guanti monouso, non mangiare, bere o fumare durante l'esecuzione del test.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente infettivi e maneggiati come infettivi.
- Eliminare i guanti, i tamponi, le provette e le card utilizzate rispettando le regole di laboratorio in appositi contenitori.
- Il test deve essere eseguito entro 2 ore dall'apertura delle buste.

### V. STOCCAGGIO E STABILITÀ

Conservare il dispositivo sigillato sia refrigerato che a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il dispositivo deve restare sigillato fino al momento dell'uso. Non congelare.

### VI. RACCOLTA DEI CAMPIONI FECALI

Raccogliere una sufficiente quantità di feci (1-2 g o mL per campioni liquidi). I campioni di feci devono essere raccolti in contenitori puliti ed asciutti (nessun conservante o terreno di trasporto). I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-4°C/36-40°F) per 1-2 giorni prima di essere testati. Per periodi di stoccaggio più lunghi i campioni vanno congelati a -20°C. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato.

### VII. PROCEDURA PER CAMPIONI FECALI

#### Procedimento del campione

Utilizzare tamponi swab o bacchette, pipette, provette o fiale diverse per ogni campione. Dispensare esattamente 0.7 mL (o 14 gocce) di tampone di estrazione in un flacone o una provetta. Introdurre il tampone swab o il bastoncino due volte nel campione di feci, in modo da raccoglierne un piccolo quantitativo, pari a un chicco di riso (150 mg) e stemperarlo nella provetta contenente il tampone. Agitare la provetta per omogeneizzare la soluzione. Per feci liquide, aspirare il campione con una pipetta gocciolatore e aggiungere 150 µL nella provetta da saggio. Agitare delicatamente, quindi agitare su vortex per 15 secondi.

#### Procedimento del test

**Portare i reattivi e il campione a temperatura ambiente prima di effettuare il test.**

1. Estrarre la card dalla busta ed usare il prima possibile.
2. Usare materiale pulito per ciascun campione. Prelevare parte del liquido surnatante con una pipetta.
3. Dispensare 4 gocce di campione (100 µL) nella finestra circolare della card. Far partire il cronometro.
4. Attendere 10 minuti quindi osservare la comparsa di bande colorate nelle finestre contrassegnate con "T" e "C".

### VIII. RACCOLTA DEI CAMPIONI ALIMENTARI

I campioni alimentari andrebbero raccolti in contenitori puliti e il dosaggio dovrebbe essere fatto subito dopo la raccolta. I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-4°C/36-40°F) per 1-2 giorni prima di essere testati. Per periodi di stoccaggio più lunghi i campioni vanno congelati a -20°C. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato, assicurandosi che la sola quantità occorrente venga scongelata perché congelamenti e scongelamenti sono sconsigliati. I campioni omogeneizzati devono essere processati subito.



**Arricchimento del Campione:**

- Miscelare 25 g di campione solido o 25 mL di campione liquido con 225 mL di Buffered Peptone Water (REF 5112783 Biolife) e omogeneare per circa 2 minuti in un omogeneizzatore di tipo peristaltico, tipo Bagmixer 1 (REF 7221230 Biolife).
- Incubare per  $18 \pm 2$  h a  $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .
- Trasferire 1 mL della coltura ottenuta in una provetta contenente 10 mL di Rappaport-Vassiliadis RVS (REF 551981 Biolife).
- Incubare il brodo RVS inoculato per  $24 \pm 3$  h a  $41.5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**IX. PROCEDURA PER CAMPIONI ALIMENTARI**

Portare i reattivi e il campione a temperatura ambiente prima di effettuare il test.

1. Mettere 1.0-2.0 mL (approssimativamente 30-40 gocce) di coltura arricchita in un tubo da test e coprirlo.
2. Mettere il tubo in un bagno maria bollente per 15 minuti. Rimuovere e lasciare che la temperatura scenda fino a quella ambiente.
3. Rimuovere la card dalla busta sigillata appena prima dell'uso ed identificare.
4. Usare per ogni campione una card e una pipetta dedicata. Dispensare 4 gocce o 100  $\mu\text{L}$  nella finestra circolare della card, evitare di aggiungere del solido con il liquido.
5. Leggere il risultato al 10 minuto (comparsa bande colorate).

**X. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

**NEGATIVO:** quando appare una sola banda nella finestra "C" (banda di controllo di colore verde). Nella finestra "T" non compare alcuna banda.

**POSITIVO:** quando appaiono due bande, una nella finestra "C" (verde) ed una nella finestra "T" (rossa). Il campione contiene Salmonella.

**NON VALIDO:** quando non appare alcuna banda di controllo. Il test deve essere ripetuto.

**XI. CONTROLLO QUALITA' INTERNO**

Viene inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. Una linea verde compare nella regione controllo C come un controllo interno. Conferma che il volume del campione è sufficiente e la tecnica procedurale corretta.

**XII. CARATTERISTICHE DEL TEST****A. Valori Attesi**

La febbre Tifoide e la Salmonellosi sono problemi di salute pubblica nei Paesi in via di sviluppo, dove l'incidenza dei casi è 200-500/100 000. La trasmissione avviene attraverso acqua e cibo contaminato dal batterio. Gli umani ed gli animali sono il principale bacino.

**B. Limite di rilevazione**

Limite di rilevazione per i differenti sierotipi è: S. enteritidis  $1 \times 10^4$  batteri/mL, S. typhimurium  $1 \times 10^4$  batteri/mL e S. typhi:  $1 \times 10^7$  batteri/mL.

**C. Sensibilità e Specificità**

E' stata fatta una valutazione usando Salmonella Ag (Mascia Brunelli). Sono stati testati 40 campioni fecali e i risultati confermati con Singlepath@Salmonella. Salmonella Ag (Mascia Brunelli) mostra una sensibilità >99% e una specificità del 97%.

Gli anticorpi utilizzati per lo sviluppo del test riconoscono gli epitopi della Salmonella trovati in campioni fecali di pazienti, così come nelle preparazioni di culture batteriche in vitro. Questi dati sono preliminari, sono necessarie ulteriori valutazioni.

**D. Cross-reattività ed interferenze**

E' stata valutata la cross-reattività di Salmonella Ag (Mascia Brunelli). Non c'è cross-reattività con i comuni patogeni intestinali, altri organismi e patogeni occasionalmente presenti nelle feci: *H. pylori*, *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*.

**XIII. LIMITI DEL TEST**

- Il test deve essere fatto entro due ore dall'apertura del contenitore di strip.
- Un eccesso di campione potrebbe dare un risultato errato (comparsa di banda marrone o assenza di banda di controllo). Diluire il campione e ripetere il test.
- Le feci di alcuni campioni fecali, possono diminuire l'intensità della banda di controllo.
- Evitare cicli di congelamento e scongelamento che potrebbero dare risultati errati.
- Un risultato negativo non è significativo in quanto è possibile avere campioni fecali contenenti concentrazioni troppo basse di Salmonella. La determinazione della Salmonella dovrebbe essere fatta in campioni arricchiti.
- Questo test da una diagnosi presuntiva di Salmonellosi o la presenza/assenza di salmonella in campioni alimentari. Una diagnosi definitiva deve essere confortata da altri parametri clinici e dal medico correlando i risultati ottenuti con altre osservazioni cliniche. Così come la presenza in campioni alimentari deve essere confermata da altri metodi validati.

**XIV. BIBLIOGRAFIA**

- GORDON, M, et al, "Invasive salmonellosis in Malawi". J Infect Developing Countries 2008; 2(6):438-442.
- SANCHEZ-JIMENEZ, M. et al. "Validation of a PCR for diagnosis of typhoid fever and salmonellosis by amplification of the hilA gene in clinical samples from Colombian patients", Journal of Medical Microbiology (2004), 53, 875-878.

	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Codice del lotto (EXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)		Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

**CONFEZIONE**

SALMONELLA Ag  
Flacone con 8 mL di tampone d'estrazione  
Istruzioni per l'uso

**Cod. VQ84060**

10 CARD  
1 Flacone  
1 pezzo

Codice Ramo CND W0105011001

