

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Codice	Sospensione	Composizione
[REF] CSI087257	Multi Kit Proteus	n° 3 flaconi x 3 ml

DESTINAZIONE D'USO

Kit multiplo per l'analisi rapida di screening su vetrino e la titolazione in micropiastra o in provetta degli anticorpi batterici specifici. I risultati dei test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. Solo per uso professionale.

SIGNIFICATO CLINICO

Il test di Weil-Felix è stato sviluppato agli inizi del '900 e si basa sulla rivelazione di anticorpi verso varie specie di Proteus che contengono antigeni che cross-reagiscono con antigeni appartenenti ai membri del genere Rickettsia. Il *Proteus vulgaris* OX19 reagisce con i sieri di persone infette con Rickettsiae (typhus group e RMSF Rocky Mountains Spotted Fever), il *Proteus vulgaris* OX2 reagisce con i sieri di persone infette con Rickettsiae (Spotted Fever Group) ed il *Proteus mirabilis* OXK reagisce con i sieri di pazienti affetti da Scrub typhus causato dalla *Orientia tsutsugamushi*.

PRINCIPIO DEL METODO

Quando un siero contenente le agglutinine specifiche reagisce con l'antigene omologo in condizioni ottimizzate e controllate, produce una agglutinazione visibile. Il grado di agglutinazione dipende dalla concentrazione dell'antigene e dell'anticorpo.

Conservazione e stabilità



= Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2 - 8°C, evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta. Non congelare. Evitare contaminazione microbica. Verifiche di stabilità ripetute su tre lotti diversi di reattivo hanno confermato una validità del reattivo per almeno 36 mesi a 2 - 8°C. Una leggera variazione nella composizione dei reattivi può verificarsi da lotto a lotto, senza interferire sui risultati dei test.

COMPONENTI

Le concentrazioni indicate si riferiscono ai reattivi pronti per l'uso.

Kit multiplo ([REF] CSI087257)

Sospensione Proteus OX19

Sospensione Proteus OX2

Sospensione Proteus OXK

Ogni flacone contiene 1x3 mL di sospensione batterica inattivata e colorata

Controllo Positivo

1x2 mL, siero positivo polivalente, pronto per l'uso.

Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Cards

n. 10 cards a fondo bianco con 6 settori per l'esecuzione del metodo rapido

Micropiastre

n.2 micropiastre a 96 pozzetti (fondo a U) per l'esecuzione delle titolazioni in micrometodo

Attenzione: i prodotti che contengono Sodio Azide possono reagire con piombo e rame formando depositi esplosivi di metallo azidi. Per l'eliminazione diluire con grandi quantità di acqua.

Separatamente sono disponibili

Ref. C18087246 Micropiastre a 96 pozzetti 14 micropiastre

Ref. C18087300 Cartoncini fondo bianco Confezione da 50 cartoncini a 6 pozzetti

Materiali necessari ma non forniti:

- Soluzione fisiologica
- Pipette automatiche a volume variabile
- Provette da sierologia

PRECAUZIONI e AVVERTENZE

- Lo smaltimento dei reagenti e dei materiali di scarto deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.
- I reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nel Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni.
- Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole della buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Non utilizzare il reattivo se risulta visibilmente degradato (es. presenza di corpuscoli).
- Tutti i campioni umani devono essere manipolati ed eliminati come materiali potenzialmente infettivi.
- Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente

formato.

- Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
- Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
- Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.

Segnalazione di incidenti gravi

Nel caso si verifichi un incidente grave in relazione all'utilizzo del dispositivo si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'autorità competente dello stato membro dell'Unione Europea in cui si è verificato l'incidente. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi. La segnalazione di incidenti gravi aiuta a fornire maggiori informazioni relativamente alla sicurezza del dispositivo medico diagnostico.

PROCEDIMENTO

Controllo qualità

Le sospensioni del kit devono essere analizzate con il siero di controllo positivo e negativo. L'assenza di reazioni rispettivamente positive o negative è indice di alterazione delle sospensioni e/o dei controlli.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE CAMPIONI

Per il test utilizzare sieri non scomplementati. Il campione deve essere limpido, privo di particelle lipidiche e di eccessiva emolisi o di contaminazioni batteriche. Conservare il campione a 2-8 °C se il test non viene eseguito il giorno stesso della raccolta.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

I reattivi e i sieri, portati a temperatura ambiente, sono pronti per l'uso. Agitare dolcemente le sospensioni per ottenere una soluzione omogenea. Dopo l'apertura il reagente è stabile fino a data di scadenza se mantenuto nelle condizioni indicate in "Conservazione e stabilità".

Metodiche

Le sospensioni contenute nel Kit possono essere utilizzate come test di screening rapido oppure per la titolazione in macrometodo (provetta) o in micrometodo (micropiastra fondo ad U).

Metodo Rapido

Test di screening

Vortexare la sospensione vigorosamente per almeno 15 secondi.

Distribuire sull'apposito cartoncino 50µl di siero e 50µl di sospensione batterica, miscelare accuratamente e roteare il cartoncino per 1 minuto.

Reazione positiva: presenza di agglutinazione visibile

Reazione negativa: assenza di agglutinazione visibile

Metodo in Micropiastra

1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	8A	9A	1A	11A	12A
1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10B	11B	12B
1C	2C	3C	4C	Ecc.							
1D	Ecc.										
1E											
1F											
1G											
1H											

1) **Vortexare la sospensione vigorosamente per almeno 15 secondi**

2) Distribuire 90µl di fisiologica nel primo pozzetto (1A) della piastra e 50µl dal secondo pozzetto (2A) al decimo (10A)

3) Distribuire 50 µl di controllo positivo e negativo **non diluiti** nei pozzetti 11 e 12

4) Nel primo pozzetto (1A) aggiungere 10µl del siero in esame e miscelare pipettando ripetutamente.

5) Trasferire 50µl dal primo pozzetto al secondo (fino al pozzetto numero 10) e miscelare pipettando ripetutamente.

6) Ripetere questa operazione per i pozzetti successivi scartando gli ultimi 50µl.

7) Ripetere le fasi da 1 a 5 per ciascun campione/antigene in esame

8) **Diluire la sospensione batterica 1:10 in soluzione fisiologica** (es. 100 µl di sospensione + 900 µl di sol.fisiologica) e distribuire 50µl di sospensione diluita in ogni pozzetto utilizzato.

9) Incubare over night (almeno 16 ore) a 37°C in camera umida utilizzando un termostato privo di vibrazioni.

10) Per migliorare le caratteristiche di lettura si suggerisce, al termine dell'incubazione, di mantenere le piastre per 30 minuti a t.a. su un piano privo di vibrazioni.



Risultati

Reazione negativa (assenza di agglutinazione): cellule batteriche sedimentate formanti un bottone con bordi ben definiti sul fondo del pozzetto.

Reazione positiva (agglutinazione): sospensione omogenea di cellule batteriche con totale assenza di bottone di sedimentazione. **Titolo:** il reciproco della diluizione più alta che non presenta formazione di bottone di sedimentazione.

Interpretazione dei risultati

Per una corretta diagnosi è discriminante rilevare un significativo aumento di titolo fra due campioni prelevati fra il 5° ed il 12° giorno dall'inizio dello stato febbrile. Per l'interpretazione del risultato rifarsi alla tabella sotto riportata:

Malattia	Agente	Reazione di Weil Felix		
		OX19	OX2	OXK
Tifo Esantematico	<i>R. prowazekii</i>	++	+	-
Tifo Murino	<i>R. mosei</i>	++	+	-
Febbre Maculosa delle Montagne Rocciose	<i>R. rickettsii</i>	+ / ++	++	- / +
Febbre Bottonosa	<i>R. conori</i>	+ / ++	++	-
Febbre fluviale del Giappone	<i>R. orientalis</i>	-	-	++
Febbre Q	<i>R. burneti</i>	-	-	-

Metodo in Provetta

DILUIRE PREVENTIVAMENTE I CONTROLLI POSITIVO E NEGATIVO 1:10 in fisiologica
Vortexare la sospensione vigorosamente per almeno 15 secondi.

- 1) Diluire 1:20 il siero in esame (100µl di siero in 1,9 ml di soluzione fisiologica).
- 2) Preparare una serie di provette per ogni antigene. Ogni set deve contenere 8 provette.
- 3) Distribuire 2 mL di siero diluito nella prima provetta mentre nelle provette successive Distribuire soltanto 1ml di soluzione fisiologica
- 4) Trasferire 1ml dalla prima alla seconda provetta e miscelare pipettando ripetutamente.
- 5) Ripetere il punto 4 per le provette successive scartando l'ultimo ml.
- 6) Distribuire in due provette finali 1 mL di controllo positivo ed 1 mL di controllo negativo prediluiti 1:10 in fisiologica (es. 100 µL di siero + 900 µL. di sol.fisiologica)
- 7) Aggiungere ad ogni provetta **60µl** della sospensione batterica **non diluita**.
- 8) Ripetere le operazioni 2 - 6 per ciascun antigene in esame.

E' consigliabile incubare in bagnomaria per 18 ore a 37°C.

9) Per migliorare le caratteristiche di lettura si suggerisce, al termine dell'incubazione, di mantenere le provette per 30 minuti a t.a. su un piano privo di vibrazioni.

Reazione negativa: assenza di agglutinazione con sovrantante torbido o formazione di un bottone su fondo della provetta.

Reazione positiva: presenza di agglutinazione sul fondo della provetta con sovrantante limpido.

Titolo: corrisponde al reciproco della diluizione più alta che presenta agglutinazione visibile.

Interpretazione dei risultati: Per una corretta diagnosi è discriminante rilevare un significativo aumento di titolo fra due campioni prelevati fra il 5° ed il 12° giorno dall'inizio dello stato febbrile (per l'interpretazione del risultato rifarsi alla tabella riportata nella interpretazione del metodo su vetrino).

Test di validazione

Specificità

Analisi eseguite con tre diversi lotti di sospensioni batteriche di *Proteus OX19, OX2 e OXK* su campioni di sieri umani negativi hanno dato risultati ripetutamente negativi.

Precisione

Prove di ripetibilità (entro la serie) e riproducibilità (tra le serie) eseguite con tre lotti diversi di sospensioni batteriche di *Proteus OX19, OX2 e OXK* su campioni umani e su sieri animali a titolo noto, hanno dato costantemente i risultati attesi.








Stabilità

Prove di stabilità in tempo reale eseguite su tre lotti di reattivo una funzionalità del reattivo integro per almeno 36 mesi a 2-8°C.

LIMITI DEL TEST

Sia la sensibilità che la specificità del test di Weil-Felix sono basse, ma il suo valore predittivo può essere aumentato testando campioni sia in fase acuta che convalescente e osservando un aumento del titolo anticorpale. Risultati positivi si ottengono in presenza di altre malattie come la leptospirosi e la febbre recidivante (malattie che richiedono la differenziazione dalle infezioni Rickettsial), nelle infezioni da *Proteus*, nella brucellosi e nella malattia febbrile acuta..

Simboli utilizzati in IFU e Packaging

 Dispositivo medico diagnostico in vitro	 Fabbricante
 Numero di catalogo	 Istruzioni per l'uso
 Numero del lotto	 Temperatura di conservazione
 Data di scadenza	

Bibliografia

1. **Castaneda M.R.** Bull. WHO • 9: 399, 1953.
2. **Sonnerwirth A.C.** 1970, in: Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis • 7th ed., p. 1482, The CV Mosby Co., St. Louis.

REVISIONE	DATA	MOTIVO DELLA REVISIONE
E	12/2022	Nuova emissione per adeguamento IVDR Regolamento (UE) 2017/746

