

#### INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Formato	REF	Sospensione	Composizione
Kit 3 x 40 test	CSI087252	Proteus Plus	3 flaconi x 20 ml

#### DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo Medico Diagnostico in vitro per l'esecuzione del test di agglutinazione in provetta per la titolazione di anticorpi secondo Weil-Felix. I risultati del 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 un'agglutinazione visibile. Questa reazione può essere eseguita in provetta, su vetrino o in micropiastrella. Nel test il siero viene diluito a raddoppio in provette da sierologia. Dopo l'aggiunta dell'antigene, la reazione viene incubata per il periodo di tempo previsto e poi letta. Il grado di agglutinazione dipende dalla concentrazione di antigene, di anticorpo, dalla composizione salina e dalla temperatura.

#### CONTENUTO DEL KIT E COMPOSIZIONE

Le concentrazioni si riferiscono al reattivo pronto all'uso.

Sospensione	Proteus OX19	1x20 ml
	Proteus OX2	1x20 ml
	Proteus OXK	1x20 ml

Sospensione batterica incolore ad una concentrazione ottimale per il test in provetta.

Contiene Sodio azide 0,95 g/L.

\*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.

#### Materiale necessario, ma non fornito

Provette da sierologia, PBS, pipette automatiche

#### Conservazione e stabilità

= Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservare il reagente e i controlli a 2-8 °C e al riparo dalla luce diretta. Non congelare. Se conservati come sopra descritto i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Una leggera variazione nella composizione dei reattivi può verificarsi da lotto a lotto, senza influire sui risultati del test.

#### 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.

#### PREPARAZIONE DEL REAGENTE

I reagenti sono liquidi e pronti all'uso. Evitare qualsiasi contaminazione chimica e batterica. Agitare bene i reagenti prima dell'uso. La sospensione deve apparire uniforme e senza aggregati visibili.

#### PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Per il test utilizzare sieri non scomplementati. I campioni possono essere conservati a 2-8 °C per 48 ore prima del test. Per periodi di tempo più lunghi i sieri devono essere congelati. I sieri emolizzati, lipemici o contaminati devono essere evitati; sieri con fibrina devono essere centrifugati.

#### PROCEDIMENTO

##### Esecuzione del test

- Portare tutti i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso. La bassa temperatura può ridurre la sensibilità del metodo.
- Agitare accuratamente prima dell'uso per risospendere eventuali aggregati.
- Prediluire i sieri in esame 1:25 con PBS tamponata pH 7.2 e trasferire 0,5mL nella provetta 1

Provetta	UM	1	2	3	4	5	6	Controllo
PBS	mL	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Siero(1:25)	mL	0,5						
Eseguire le diluizioni al raddoppio traferendo 0,5 mL dalla provetta n. 1 alla successiva, fino alla provetta N. 6, scartando gli ultimi 0,5 mL residui								
Sosp. diagnostica	mL	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Agitare e tenere in termostato a 37°C per 24 ore								
Diluizioni finali		1:1 00	1:2 00	1:40 0	1:80 0	1:160 0	1:3 200	-

#### Risultati

**Reazione positiva (agglutinazione):** Sedimentazione delle cellule con netta chiarificazione netta del sovrannatante.

**Reazione negativa (assenza di agglutinazione):** Sospensione torbida, omogenea con assenza di sedimentazione.

#### Titolo

È il reciproco della diluizione più alta che mostri un'agglutinazione visibile. Si può talvolta verificare un effetto border-line, cioè nella provetta vi è presenza di una torbidità relativamente inferiore rispetto al controllo negativo con, al fondo, un bottone di sedimentazione. In questo caso il titolo è dato dalla provetta in cui si verifica l'effetto border-line e non dalla provetta precedente.

#### Interpretazione dei risultati

In generale si considerano probanti per la diagnosi della malattia titoli uguali o superiori a 1:100. Considerando + titoli moderati e ++ titoli più elevati, la diagnosi può essere eseguita secondo il seguente schema:

Malattia	Agente	Reazione Weil - Felix		
		OX 19	OX 2	OX K
Tifo Esantematico	<i>R. prowazekii</i>	++	+	-
Tifo Murino	<i>R. mooseri</i>	++	+	-
Febbre Maculosa delle Montagne Rocciose	<i>R. rickettsii</i>	+ / ++	++	- / +
Febbre Bottonosa	<i>R. conori</i>	+ / ++	++	-
Febbre Fluviale Giappone	<i>R. orientalis</i>	-	-	++
Febbre Q	<i>R. burneti</i>	-	-	-

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.

#### Test di validazione

##### Specificità

Analisi eseguite con tre lotti diversi di sospensioni batteriche di Proteus OX19, OX2 ed OX K su campioni di sieri umani negativi, hanno dato risultati ripetutamente negativi.

##### Precisione

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

##### Sensibilità

Test eseguiti su tre diversi lotti di sospensione batterica OX19, OX2 ed OX K, hanno confermato il titolo ottenuto con il metodo di riferimento.

##### Controllo Qualità

Le sospensioni del kit devono essere analizzate con i sieri di controllo positivo e con fisiologica (negativo). Qualora non si ottengano risultati rispettivamente positivi e negativi, le sospensioni e/o i sieri di controllo sono da considerare deteriorati.

##### Stabilità

Le prove di stabilità sono state condotte su tre diversi lotti di ogni sospensione batterica ed hanno confermato la stabilità dei reagenti per 36 mesi se conservati a 2-8 °C.

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

- Castaneda M.R. - Bull WHO, 9, 399, 1953
- Sonnervirth 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
C	06/2023	Nuova emissione per adeguamento IVDR Regolamento (UE) 2017/746



#### ORDERING INFORMATIONS

Format	REF	Suspension	Composition
Kit 3 x 40 test	CSI087252	Proteus Plus	3 vials x 20 ml

#### INTENDED USE

In vitro diagnostic medical device for performing the agglutination test in a test tube for the titration of antibodies according to Weil-Felix. Test results should always be interpreted in relation to the clinical context. For professional use only.

#### CLINICAL SIGNIFICANCE

Weil Felix test was developed at the beginning of '900 and is based on the revealing of antibodies against some species of Proteus that contain antigens cross-reacting with Rickettsia genus. Proteus vulgaris OX19 reacts with sera of people infected with Rickettsiae (typhus group e RMSF Rocky Mountains Spotted Fever), Proteus vulgaris OX2 reacts with sera of people infected with Rickettsiae (Spotted Fever Group) and Proteus mirabilis OXK reacts with sera of people with scrub typhus caused dalla Orientia tsutsugamushi.

#### PRINCIPLE OF THE METHOD

When a serum, containing the specific agglutinins, reacts with the homologous antigen, under optimized and controlled conditions, it produces a visible agglutination. This reaction can be performed in a test tube, on a slide or in a microplate. In the test, the serum is diluted by doubling in serology tubes. After the antigen is added, the reaction is incubated for the expected period of time and then read. The degree of agglutination depends on the concentration of antigen, antibody, salt composition and temperature.

#### COMPONENTS

All concentrations refer to ready to use reagent:

Suspension	Proteus OX19	1x20 ml
	Proteus OX2	1x20 ml
	Proteus OXK	1x20 ml

Unstained bacterial suspension at optimal concentration for tube test.


Contains Sodium azide 0,95 g/L.

\*Warning: Products that contain sodium azide may react with lead and copper in plumbing to form explosive metal azides. On disposal flush with large volumes of water to prevent azide build up.

#### Other material required, but not supplied

Serological tubes, Physiological saline, automatic pipettes.

#### Storage and Stability

 = Storage Temperature 2-8 °C

Store reagents and controls at 2-8° C avoiding direct light. Do not freeze. Under above conditions reagents are stable until expiration date indicated on the label. Slight variations in composition among batches will not affect test results.

#### PRECAUTIONS AND WARNINGS

1. Reagents and waste materials shall be disposed of in accordance with Community waste provisions or national or regional provisions.
2. Reagents may contain non-active components such as preservatives and detergents. The total concentration of these components is below the limits set out in Regulation 1272/2008 EC and subsequent amendments and additions.
3. It is recommended that the reagent be handled in accordance with the rules of good laboratory practice and that appropriate personal protective equipment be used.
4. Do not use the reagent if it is visibly degraded (e.g. presence of corpuscles).
5. All human samples shall be handled and disposed of as potentially infectious material.
6. The kit should only be used by qualified and properly trained technical personnel.
7. Diagnoses shall be carried out exclusively by authorised and qualified personnel.
8. Comply with national directives on occupational safety and quality assurance.
9. Use equipment that complies with current regulations.

#### Reporting of serious incidents

In the event of a serious incident in relation to the use of the device, please inform the manufacturer (via your distributor) and the competent authority of the European Union member state where the incident occurred. For other jurisdictions, reporting must be made in accordance with regulatory requirements. Reporting serious incidents helps provide more information about the safety of the diagnostic medical device.

#### REAGENT PREPARATION

Reagents are liquid ready to use. Avoid any chemical or bacteriological contamination. Mix well reagents before use. Suspension must appear uniform and free of visible particles.

#### SPECIMEN COLLECTION AND PRESERVATION

Not-inactivated sera must be used. Samples can be stored at 2-8° C for 48 h before testing. For longer time of storage samples must be frozen (-20° C). Highly hemolyzed, lipemic or contaminated samples cannot be used. Samples with the presence of fibrin should be centrifuged before testing.

#### PROCEDURE

##### Technique

- 1 -Bring reagents and materials to room temperature. Low temperature can reduce the method sensitivity.
- 2 -Swirl gently the reagent before using. Suspension must appear uniform and free from visible particles.
- 3- pre-dilute testing sera 1:25 with buffered PBS pH 7,2 and transfer 0.5 mL in tube 1.

Tube	MU	1	2	3	4	5	6	Control
PBS	mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Serum(1:25)	mL	0.5						
Carry out two-fold dilutions transferring 0.5 mL from the tube n. 1 to the next, until tube N. 6, discarding last 0.5 mL								
Diagnostic suspension	mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Mix and incubate a 37°C for 24 hours								
Serum dilutions		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	-

#### Results

**Positive Reaction (agglutination):** Sedimented cells with clear supernatant.

**Negative Reaction (absence of agglutination):** Uniformly cloudy suspension without sedimentation

#### Titer

The titer is defined as reciprocal dilution of serum showing a visible bacterial agglutination. Sometimes we can have a border-line effect; for example, a tube with less turbidity if compared with negative control showing , in the bottom, a sedimentation button. In this case the tube which shows the border-line effect, and not the previous tube, fix the titer.

#### Results interpretation

Generally, titers equal or higher than 1:100 are probative for the diagnosis of the disease.

If we consider + as a medium titer and ++ as a higher titer, the diagnosis can be made according to the following table:

Disease	Agent	Weil – Felix Reaction		
		OX 19	OX 2	OX K
Epidemic typhus	<i>R. prowazekii</i>	++	+	-
Murine typhus	<i>R. mooseri</i>	++	+	-
Rocky Mountains spotted Fever	<i>R. rickettsii</i>	+ / ++	++	- / +
Boutonneuse Fever	<i>R. conori</i>	+ / ++	++	-
Tsutsugamushi Fever	<i>R. orientalis</i>	-	-	++
Q fever	<i>R. burneti</i>	-	-	-

To have a correct diagnosis it is discriminating measuring a significant growth of the titer between two samples drawn in the 5th and 12th day from the beginning of the fever .

#### Validation Test

##### Specificity

Tests carried out with three different lots of bacterial suspension of Proteus OX19, OX2 and OX K, on samples of human negative serum have given repeatedly negative results.

##### Precision

Test of repeatability (within run) and reproducibility (between run) carried out with three different lots of bacterial suspension of Proteus OX19, OX2 and OX K on normal human samples and animal samples at known titre, have given constantly the expected results.

##### Sensibility

Tests carried out with three different lots of bacterial suspension OX19, OX2 ed OX K, on human positive sera, had confirmed the titer obtained with reference methods.








##### Quality Control

Agglutinable suspensions in the kit must be analyzed using a positive serum as control and PBS as Negative Control. If it is impossible to obtain positive and negative results respectively, suspensions or Control serum would be considered impaired.

##### Stability

Stability test, in real time, carried out on three different lots of each bacterial suspension, have confirmed the correct functionality of the reagent for at least 36 months to 2-8° C.

#### Symbols used in IFU and Packaging

 In vitro diagnostic medical device vitro	 Manufacturer
 Catalogue Number	 Instruction for use
 Lot Number	 Temperature limitation
 Expiration date	

#### 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

REVISION	DATE	CHANGES
Rev.C	06/2023	New Issue for IVDR Regulation (UE) 2017/746 compliance

