

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Formato	REF	Sospensione	Composizione
Kit 3 x 100 test	CSI087254	Proteus Color Kit	3 flaconi x 5 ml

DESTINAZIONE D'USO

Test di agglutinazione su micropiastra 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 micropiastra. Nel test il siero viene diluito a raddoppio nei pozzetti di una micropiastra. Dopo l'aggiunta dell'antigene, la reazione viene incubata per il periodo di tempo previsto e poi letta. I microorganismi sono colorati per aiutare la lettura; le reazioni positive appaiono come uno strato omogeneo di cellule sul fondo del pozzetto mentre le reazioni negative si presentano come un bottone totalmente o parzialmente compatto di cellule fortemente colorate.

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.

CONTENUTO DEL KIT E COMPOSIZIONE

Le concentrazioni si riferiscono al reattivo pronto all'uso.

Sospensione	Proteus OX19	1x5 ml
	Proteus OX2	1x5 ml
	Proteus OXK	1x5 ml

Sospensione batterica colorata ad una concentrazione ottimale per il test in piastra.

Contiene Sodio azide 0,95 g/L.

Siero di Controllo positivo (polivalente, di origine animale) 1x1 ml

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.

4 micropiastre a 96 pozzetti fondo ad U per l'esecuzione del test.

Materiale necessario, ma non fornito

PBS, pipette automatiche per distribuire 10 µL, 50 µL, 90 µL

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

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

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.
- Pre-diluire i sieri in esame 1:25 con PBS tamponata pH 7.2 nei pozzetti della colonna 1 (1A, 1B ecc)

		FILE											
COLONNE	1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	8A	9A	10A	11A	12A	
	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10B	11B	12B	
	1C	2C	3C	4C	5C	6C	7C	8C	9C	10C	11C	12C	
	ETC												
Dil	25	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600			

- Iniziando dal primo pozzetto della prima fila (1A), diluire 10 µL di campione con 240 µL di PBS tamponato
- Distribuire 50 µL di PBS negli altri pozzetti della fila, fino al 10 A; nell' 11 A aggiungere 50 µL di controllo positivo indiluito.
- Diluire il campione trasferendo 50 µL dal pozzetto 1 al 2.
- Miscelare pipettando ripetutamente e trasferire 50 µL nel pozzetto 3 A.
- Proseguire fino al pozzetto 10 e scartare gli ultimi 50 µL.
- Ripetere le operazioni per ciascun siero in esame.
- Distribuire 50 µL di sospensione batterica in ogni pozzetto utilizzato (ad eccezione della colonna 1 utilizzata per la prediluizione).
- Agitare per 30 secondi con un agitatore di piastre o a mano.
- Incubare a 37° C in camera umida in termostato privo di vibrazioni per 16 ± 4 ore
- 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 positiva (agglutinazione): Strato omogeneo di cellule senza un visibile bottone di batteri sedimentati.

Reazione negativa (assenza di agglutinazione): Cellule sedimentate formanti un bottone sul fondo del pozzetto.

Titolo

È il reciproco della diluizione più alta che mostri un'agglutinazione visibile. Si può talvolta verificare un effetto border-line, cioè nel pozzetto vi è presenza di un bottone di cellule più piccolo rispetto al controllo negativo con, intorno, un alone di cellule agglutinate.

In questo caso il titolo è dato dal pozzetto in cui si verifica l'effetto border-line e non dal pozzetto 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.

Caratteristiche del metodo

I risultati ottenuti con il Proteus color kit hanno dimostrato una buona correlazione (± 1 diluizione) con i titoli ottenuti con i tests classici in provetta.

Simboli utilizzati in IFU e Packaging	
 Dispositivo medico diagnostico in vitro	 Fabricante
 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
- 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
D	12/2022	Nuova emissione per adeguamento IVDR Regolamento (UE) 2017/746