

Revisions

Rev from	Rev to	ECO #
1008	2010/07	5440-10

Notes:

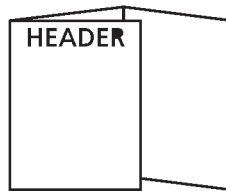
1. BD Cat. Number 222321, 229101, 222281, 222291, 222301, 222311, 228801, 228811, 228911, 222521, 222531, 241110, 241111, 241112, 241113
2. Blank (Sheet) Size: Length: 9" Width: 40"
 Number of Pages: 20 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 9" Width 4" Final Folded Size: 2.25" x 4"
3. Style (see illustrations below): # 4



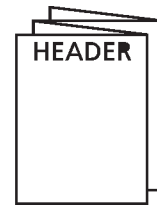
#1



#2



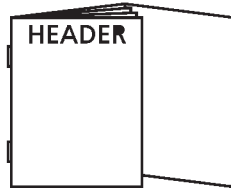
#3



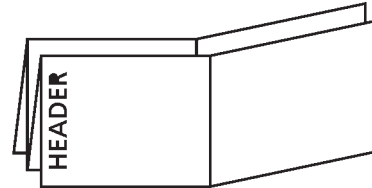
#4



#5



#6



#7

4. See Specification Control Number N/A for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS# 2755 Blue
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: 8085876		Category and Description Package Insert, Neisseria Meningitidis Antisera	Sheet: 1 of 21 Scale: N/A	A

BD Difco™ Neisseria Meningitidis Antisera



8085876
2010/07

English: pages 1 – 4 Italiano: pagine 11 – 14
Français : pages 4 – 7 Español: páginas 14 – 17
Deutsch: Seiten 7 – 10

Pokyny vám poskytne miestni zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Для получения инструкций свяжитесь с местным представителем компании BD. / Өзіңіздің жергілікті БД өкіліне жүгініп нұсқау алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

INTENDED USE

Difco™ Neisseria Meningitidis Antisera are recommended for use in slide agglutination tests for serotyping *Neisseria meningitidis*.

SUMMARY AND EXPLANATION

Neisseria meningitidis, also known as meningococcus, is found in the oropharynx and nasopharynx of humans. Because the organism survives poorly in the environment, humans are the primary reservoir. In asymptomatic persons the carrier state lasts for variable time periods, usually several weeks. The microorganism is transmitted from person-to-person by direct contact with respiratory secretions or airborne droplets.^{1,2}

Typical human specimens for isolating the organism are: cerebrospinal fluid (CSF), blood, skin lesions (in cases where petechiae occur) and nasopharyngeal swabs. *N. meningitidis* occurs in the cervix and vagina of females and can cause serious pelvic disease. Other sites include the anal canal and in males, the urethra.

N. meningitidis is divided into serologic groups based on the presence of either capsular or outer membrane protein antigens. Among the currently recognized groups are A, B, C, D, 29E, H, I, K, L, X, Y, Z, Z' and W135. Groups A, B, C, Y and W135 are most frequently implicated in systemic disease.³ Other serogroups are sporadically isolated from carriers and patients with disease.

N. meningitidis are gram-negative cocci usually occurring in pairs called diplococci. They are strict aerobes and produce the enzyme cytochrome oxidase. The growth of *N. meningitidis* is enhanced by a CO₂-enriched atmosphere.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Identification of *N. meningitidis* includes the isolation of the microorganism, biochemical identification and serologic confirmation.

Serologic confirmation involves the reaction in which the microorganism (antigen) reacts with its corresponding antibody. This *in vitro* reaction produces macroscopic clumping called agglutination. The desired homologous reaction is rapid, does not dissociate (high avidity) and binds tightly (high affinity).

Because a microorganism (antigen) may agglutinate with an antibody produced in response to some other species, heterologous reactions are possible. These are characterized as weak in strength or slow in formation. Such unexpected and perhaps unpredictable reactions may lead to some confusion in serologic identification. Therefore, a positive homologous agglutination reaction should support the morphological and biochemical identification of the microorganism.

Homologous reactions occur rapidly and are strong. Heterologous reactions form slowly and are weak.

REAGENTS

Difco Neisseria Meningitidis Antisera are stable, lyophilized, polyclonal rabbit antisera containing approximately 0.1% sodium azide as a preservative.

The Difco Neisseria Meningitidis Antisera detect the following antigenic groups:

Antiserum	Antigenic Group Detected	Antiserum	Antigenic Group Detected
Poly	A, B, C, D	D	D
Poly 2	X, Y, Z*	X	X*
W135	W135*	Y	Y*
A	A*	Z	Z*
B	B*	Z'	Z, Z'*
C	C*		

*Not absorbed for Group D, which is rarely isolated.

When properly rehydrated and used as described (see Procedure) each vial of Difco Neisseria Meningitidis Antiserum is sufficient reagent for 20 slide tests.

Warnings and Precautions

For *in vitro* Diagnostic Use.

The Packaging of This Product Contains Dry Natural Rubber.

Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. After use, specimens, containers, slides, tubes and other contaminated material must be sterilized by autoclaving. Directions for use should be followed carefully.

WARNING: This product contains sodium azide. Sodium azide is toxic by inhalation, by skin contact, and if swallowed. Contact with acid liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Storage

Store lyophilized and rehydrated **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera at 2 – 8°C.

Prolonged exposure of reagents to temperatures other than those specified is detrimental to the products.

Expiration date applies to product in its intact container when stored as directed. Do not use if the product is caked, discolored or shows other signs of deterioration.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

N. meningitidis can be recovered on blood agar or chocolate agar. For specific recommendations consult appropriate references.^{4,5} Determine that a pure culture of the microorganism has been obtained and that biochemical test reactions are consistent with the identification of the organism as *N. meningitidis*. After these criteria are met, serologic identification can be performed.

PROCEDURE

Materials Provided: **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Poly; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum A; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum B; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum C; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum D; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum X; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Y; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Z; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Z'; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum W135.

Materials Required But Not Provided: Agglutination slides; Applicator sticks; Sterile purified water; Sterile 0.85% saline; Bacteriological loop.

Reagent Preparation

To rehydrate **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera, add 1 mL sterile purified water and rotate gently to completely dissolve the contents.

Equilibrate all materials to room temperature prior to performing the tests.

Ensure that all glassware and pipettes are clean and free of residues such as detergent.

User Quality Control

At the time of use, test both positive and negative control cultures to check performance of the antisera, techniques and methodology.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI (formerly NCCLS) guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

Test isolate for autoagglutination

- From the test culture on chocolate agar, transfer a loopful of growth to a drop of sterile 0.85% saline on a clean slide and emulsify the organism.
- Rotate the slide for one min, then observe for agglutination.
- If agglutination (autoagglutination) occurs, the culture is rough and cannot be tested. Subculture to chocolate agar, incubate and test the organism again as described in steps 1 and 2.
- If no agglutination occurs, proceed with testing the organism.

Choice of antisera

Test the organism first with **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera Poly, Poly 2, Group Z' and Group W135. Depending upon the reaction, continue testing according to either a, b or c listed below.

- If agglutination occurs with **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera Poly or Poly 2, test the organism with the monospecific antisera indicated:

If positive reaction with this antiserum:	Retest with these antisera:
Poly Poly 2	A, B, C and D X, Y and Z

- If agglutination occurs with **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z', test the organism with monospecific **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z. Cultures of *N. meningitidis* group Z' will not agglutinate **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z. However, cultures of *N. meningitidis* group Z will agglutinate **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z'. The expected agglutination patterns are as follows:

Organism	Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z'	Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z
<i>N. meningitidis</i> group Z'	3+	–
<i>N. meningitidis</i> group Z	+	3+

- If agglutination occurs with **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum W135, no further testing is necessary.

Procedural Steps

1. Dispense 1 drop of the **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum to be tested on an agglutination slide.
2. Transfer a loopful of growth of the test organism to the drop of antiserum and mix thoroughly.
3. Rotate the slide for one min and read for agglutination.
4. Repeat steps 1 – 3 for known positive and negative cultures.

RESULTS

1. Read and record results as follows:
 - 4+ 100% agglutination (background clear to slightly hazy)
 - 3+ 75% agglutination (background slightly cloudy)
 - 2+ 50% agglutination (background moderately cloudy)
 - 1+ 25% agglutination (background cloudy)
 - No agglutination
2. The positive control should show 3+ or greater agglutination.
3. The negative control should show no agglutination.
4. For test isolates, a 3+ or greater agglutination within one min is a positive result.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. Correct interpretation of serologic reactions depends upon culture purity and morphological characteristics and biochemical reactions that are consistent with identification of the microorganism as *N. meningitidis*.
2. Serologic methods alone cannot identify the isolate as *N. meningitidis*. Organisms unrelated to *Neisseria*, yet capable of causing meningitis and other species of *Neisseria* can cross-react with meningococcal antisera.
3. Excessive heat from external sources (hot bacteriological loop, burner flame, light source, etc.) may prevent a smooth suspension of the microorganism or cause evaporation or precipitation of the test mixture. False positive reactions may occur.
4. Rough culture isolates do occur and will agglutinate spontaneously, causing agglutination of negative controls (autoagglutination). Smooth colonies must be selected and tested in serologic procedures.
5. *N. meningitidis* group A and group C may cross-react due to the presence of common capsular polysaccharides.
6. Group Z meningococci may agglutinate group Z' antiserum. Group Z' meningococci will not agglutinate group Z antiserum.
7. **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera have been tested using undiluted cultures taken from agar media. These antisera have not been tested using antigen suspensions in saline or other diluents. If the user applies variations in the recommended steps (see **Procedure**) each lot of antiserum must be tested with known control cultures to verify expected reactions under the modified procedure.
8. Rehydrated **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera that are cloudy or have a precipitate during the period of use should be discarded.
9. Confirmatory testing of uncommon serogroups X, W135, Y, Z and 29E is suggested.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS⁶

The performance of **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera, manufactured by Difco Laboratories, was compared to two other commercially available tests for serological grouping of meningococci in a study by van der Ende, Schuurman, Hopman, Fijen and Dankert.⁶ One commercial product used rabbit and mouse antibodies in slide agglutination tests. The other commercial product used rabbit and mouse antibodies in latex agglutination tests. Seventy two (72) reference strains were used in this study.⁶

The table below lists the number of correctly identified isolates obtained for each test system.

Serogroup	No. of Samples	Slide Agglutination Test using Difco™ Neisseria Meningitidis Antisera	Commercial Slide Agglutination Test	Commercial Latex Test
A	10	9	10	9
B	10	9	10	10
C	10	9	9	10
X	6	5	5	*
Y	9	7	9	9†
Z	4	1	4	*
W135	6	5	5	6‡
29E (Z')	2	2	*	*
Other serogroups & nonencapsulated strains which should be negative by the test.	15	14/15	15/17‡	23/27‡
Total	72	61/72	67/72	67/72

* The other 2 commercial kits do not contain antisera to detect *N. meningitidis* groups X, Z and/or 29E.

† Latex test cannot distinguish between *N. meningitidis* serogroups Y and W135.

‡ Serogroup 29E and serogroups X, Z and 29E are also included for the commercial slide and latex tests, respectively.

In this study, the sensitivity of the **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera was 92% and the specificity was 67%.⁶ Using only antisera against the common serogroups A, B, C for serogrouping, the sensitivity was 93% and the specificity was 98%.⁶

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
222321	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Poly, 1 mL
229101	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2, 1 mL
222281	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A, 1 mL
222291	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp B, 1 mL
222301	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C, 1 mL
222311	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp D, 1 mL
228801	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp X, 1 mL
228811	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y, 1 mL
228911	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z, 1 mL
222521	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z', 1 mL
222531	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135, 1 mL
241110	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A, 1 mL, 100 unit Shelf Pack
241111	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C, 1 mL, 100 unit Shelf Pack
241112	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135, 1 mL, 100 unit Shelf Pack
241113	Difco™ Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y, 1 mL, 100 unit Shelf Pack

REFERENCES

1. Given, K.F., B.W. Thomas, and A.G. Johnston. 1977. Isolation of *Neisseria meningitidis* from the urethra, cervix, and anal canal: further observations. *Br. J. Vener. Dis.* 53:109-112.
2. Janda, W.M., M. Bohnhoff, J.A. Morello, and S.A. Lerner. 1980. Prevalence and site pathogen studies of *Neisseria meningitidis* and *N. gonorrhoeae* in homosexual men. *JAMA* 244:2060-2064.
3. Zollinger, W.D., B.L. Brandt, and E.C. Tramont. 1986. Immune response to *Neisseria meningitidis*, p. 346-352. In N. R. Rose, H. Friedman, and J.L. Fahey (ed.), *Manual of clinical laboratory immunology*, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Pezzlo, M. 1994 *Aerobic bacteriology*, p.1.0.1-1.20.47. In H.D. Isenberg, (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*, vol.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Knapp, J.S., and E.H. Koumans. 1999. *Neisseria* and *Branhamella*, p. 586-603. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. van der Ende, A., I.G.A. Schuurman, Ch.P. Hopman, C.A.P. Fijen and J. Dankert. 1995. Comparison of commercial diagnostic tests for the identification of serogroup antigens of *Neisseria meningitidis*. *J. Clin. Microbiol.* 33:3326-3327.

BD Difco Neisseria Meningitidis Antisera

Français

APPLICATION

Les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera (sérum anti-Neisseria Meningitidis **Difco**) sont recommandés pour réaliser les tests d'agglutination sur lame utilisés pour le sérotypage du *Neisseria meningitidis*.

RESUME ET EXPLICATION

Neisseria meningitidis, aussi connu sous le nom de méningocoque, se trouve dans l'oropharynx et le rhino-pharynx des humains. Etant donné que le microorganisme survit difficilement dans l'environnement, les humains en sont le principal réservoir. Chez les personnes asymptomatiques, le microbisme latent dure pendant des périodes variables, habituellement plusieurs semaines. Le microorganisme est transmis d'une personne à l'autre par contact direct avec des sécrétions respiratoires ou des gouttelettes aérogènes.^{1,2}

Les échantillons humains typiques utilisés pour isoler le microorganisme sont : liquide céphalo-rachidien (LCR), sang, lésions cutanées (en présence de pétéchies) et prélèvements rhino-pharyngiens. *N. meningitidis* se produit dans le col de l'utérus et le vagin des femmes et peut causer des maladies pelviennes graves. D'autres sites comprennent le canal anal et chez les hommes, l'urètre.

N. meningitidis est divisé en groupes sérologiques basés sur la présence d'antigènes de capsule ou de protéine de la membrane extérieure. Les groupes A, B, C, D, 29E, H, I, K, L, X, Y, Z, Z' et W135 sont parmi les groupes actuellement reconnus. Les groupes A, B, C, Y et W135 sont les plus fréquemment impliqués dans les maladies systémiques.³ Les autres sérogroupes sont rarement isolés des porteurs et des patients malades.

N. meningitidis sont des cocci Gram négatif se rencontrant habituellement en paires appelées diplocoque. Ce sont des aérobies stricts et ils produisent l'enzyme cytochrome-oxydase. La croissance de *N. meningitidis* est facilitée dans une atmosphère enrichie en CO₂.

PRINCIPES DE LA METHODE

L'identification de *N. meningitidis* comprend l'isolement du microorganisme, son identification biochimique et sa confirmation sérologique.

La confirmation sérologique implique une réaction dans laquelle un antigène du microorganisme réagit avec l'anticorps correspondant. Cette réaction *in vitro* entraîne une formation d'agrégats macroscopiques appelée agglutination. La réaction homologue souhaitée est rapide, ne dissocie pas (avidité élevée) et lie fermement (affinité élevée).

Comme l'antigène du microorganisme peut agglutiner un anticorps produit en réponse à une infection par d'autres espèces bactériennes, des réactions hétérologues sont possibles. Elles se caractérisent par une concentration faible et de formation lente. Ces réactions inattendues et, peut-être, imprévues peuvent conduire à une certaine confusion d'identification sérologique. Ainsi, une réaction

d'agglutination homologue positive doit concorder avec l'identification du microorganisme sur la base de ses caractéristiques biochimiques et morphologiques. Les réactions homologues se produisent rapidement et sont élevées. Les réactions hétérologues se forment lentement et sont faibles.

REACTIFS

Les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera sont des antisérums de lapin polyclonaux stables, lyophilisés, contenant environ 0,1 % d'azide de sodium (conservateur).

Les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera détectent les groupes d'antigènes suivants :

Antisérum	Groupe d'antigènes détecté	Antisérum	Groupe d'antigènes détecté
Polyvalent	A, B, C, D	D	D
Polyvalent 2	X, Y, Z*	X	X*
W135	W135*	Y	Y*
A	A*	Z	Z*
B	B*	Z'	Z, Z'*
C	C*		

*Non absorbé pour le groupe D, qui est rarement isolé.

Convenablement réhydraté et utilisé conformément aux instructions (voir **Méthode**), un flacon de **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum permet de réaliser 20 tests sur lame.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les échantillons, les récipients, les lames, les tubes et les autres matériels contaminés. Respecter scrupuleusement le mode d'emploi.

AVERTISSEMENT : Ce produit contient de l'azide de sodium, qui est toxique par inhalation, contact avec la peau ou ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. Après tout contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

Conservation

Conserver les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera lyophilisés et reconstitués entre 2 et 8 °C.

L'exposition prolongée des réactifs à des températures autres que les températures spécifiées a un effet adverse sur ceux-ci.

La date de péremption s'applique au produit contenu dans son emballage intact et conservé conformément aux instructions. Ne pas utiliser si le produit présente un aspect agglutiné, décoloré ou d'autres signes de détérioration.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

N. meningitidis peut être isolé sur une gélose au sang ou une gélose au chocolat. Pour obtenir des recommandations spécifiques, consulter les références appropriées^{4,5}. Etablir qu'une culture pure de microorganismes a été obtenue et que les résultats des tests biochimiques concordent avec l'identification du microorganisme comme *N. meningitidis*. Si ces conditions sont remplies, l'identification sérologique peut être effectuée.

METHODE

Matériaux fournis : **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Poly; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum A; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum B; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum C; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum D; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum X; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Y; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Z; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Z'; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum W135.

Matériaux requis mais non fournis : Lames à agglutination; Ecouillons; Eau purifiée stérile; Solution saline stérile à 0,85 %; Anse bactériologique.

Préparation du réactif

Pour reconstituer les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera, ajouter 1 mL d'eau purifiée stérile et agiter doucement avec un mouvement de rotation pour dissoudre le contenu. Laisser tous les matériels s'équilibrer à température ambiante avant de procéder aux tests. S'assurer que la verrerie et les pipettes utilisées sont propres et exemptes de résidus (traces de détergent par exemple).

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Tester dans la même série des contrôles positifs et négatifs pour contrôler les performances des antisérums, des techniques et de la méthodologie.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI (anciennement NCCLS) et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

Test d'autoagglutination de l'isolat

1. Transférer une pleine anse de culture bactérienne prélevée sur une gélose au chocolat, dans une goutte de solution saline stérile à 0,85 % déposée sur une lame propre et émulsionner les microorganismes.
2. Agiter pendant une min par un mouvement de rotation de la lame, puis observer s'il se produit une réaction d'agglutination.
3. Si une agglutination se produit (autoagglutination), la culture n'est pas pure et ne peut pas être testée. Répliquer sur gélose au chocolat, incubé et tester de nouveau le microorganisme comme expliqué aux étapes 1 et 2.

4. Si aucune agglutination ne se produit, procéder au test du microorganisme.

Choix des antisérums

Tester les microorganismes en premier avec les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera Poly, Poly 2, groupe Z' et groupe W135. En fonction de la réaction, continuer à tester conformément à a, b ou c listés ci-dessous.

- a. Si une agglutination se produit avec les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera Poly ou Poly 2, tester le microorganisme avec les antisérums monospécifiques indiqués :

Si une réaction positive se produit avec cet antisérum :	Retester avec ces antisérums :
Polyvalent Poly 2	A, B, C, et D X, Y, et Z

- b. Si une agglutination se produit avec le **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum groupe Z', tester le microorganisme avec le **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum monospécifique groupe Z. Les cultures de *N. meningitidis* groupe Z' n'agglutineront pas le Difco Neisseria Meningitidis Antiserum groupe Z. Cependant, les cultures de *N. meningitidis* groupe Z agglutineront le **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum groupe Z'. Le schéma d'agglutination escompté sera le suivant :

Microorganisme	Sérum anti-Neisseria Meningitidis groupe Z'	Sérum anti-Neisseria Meningitidis groupe Z
<i>N. meningitidis</i> groupe Z'	3+	-
<i>N. meningitidis</i> groupe Z	+	3+

- c. Si une agglutination se produit avec le **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum W135, aucun test supplémentaire n'est nécessaire.

Etapas de la méthode

- Déposer une goutte du **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum à tester sur une lame à agglutination.
- A l'aide d'un enseigneur, transférer une pleine anse de culture bactérienne à analyser dans la goutte d'antisérum et bien mélanger.
- Agiter pendant une min par un mouvement de rotation de la lame, puis observer s'il se produit une réaction d'agglutination.
- Répéter les étapes 1 à 3 pour les cultures positives et négatives connues.

RESULTATS

- Lire et reporter les résultats comme suit :
 - 4+ 100 % d'agglutination (fond clair à légèrement voilé)
 - 3+ 75 % d'agglutination (fond légèrement trouble)
 - 2+ 50 % d'agglutination (fond moyennement trouble)
 - 1+ 25 % d'agglutination (fond trouble)
 - Absence d'agglutination.
- Le témoin positif doit provoquer une agglutination de niveau 3+ ou supérieur.
- Le témoin négatif ne doit présenter aucune agglutination.
- S'agissant des isolats à tester, une agglutination de niveau 3+ ou supérieur en moins d'une minute constitue un résultat positif.

LIMITES DE LA PROCEDURE

- La pertinence de l'interprétation des réactions sérologiques est fonction de la pureté de la culture et de la concordance des réactions biochimiques et des caractéristiques morphologiques identifiant le microorganisme comme *N. meningitidis*.
- Utilisées seules, les méthodes sérologiques ne suffisent pas à identifier un isolat comme étant *N. meningitidis*. Les organismes non apparentés à *Neisseria*, capables malgré tout de provoquer une méningite et d'autres espèces de *Neisseria*, peuvent produire une réaction croisée avec les sérums anti-méningocoque.
- Une source de chaleur externe excessive (anse d'enseigneur brûlante, flamme du bec bunsen, source lumineuse, etc.) peut empêcher d'obtenir une suspension fluide du microorganisme ou entraîner une évaporation ou la précipitation du mélange réactionnel. De faux positifs risquent d'être obtenus.
- Des isolats de culture non purs sont parfois obtenus et provoquent une agglutination spontanée entraînant l'agglutination des témoins négatifs (autoagglutination). Choisir des colonies lisses et les tester suivant les méthodes sérologiques.
- Les groupe A et groupe C de *N. meningitidis* peuvent produire des réactions croisées à cause de la présence de polysaccharides capsulaires communes.
- Les méningocoques de groupe Z peuvent produire une agglutination de l'antisérum de groupe Z'. Les méningocoques de groupe Z' ne produisent pas une agglutination de l'antisérum de groupe Z.
- Les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera ont été testés sur des cultures non diluées prélevées sur milieu gélosé. Ces antisérums n'ont pas été testés sur des suspensions d'antigène réalisées dans du sérum physiologique ou d'autres diluants. Si l'utilisateur apporte des variations aux étapes recommandées (voir **Méthode**), chaque lot d'antisérum doit être testé en utilisant des cultures témoins connues pour s'assurer que la méthode modifiée permet d'obtenir les résultats escomptés.
- Les **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera reconstitués troubles ou produisant un précipité durant la période d'utilisation doivent être jetés.

9. Il est suggéré d'effectuer un test de confirmation des sérogroupes non communs X, W135, Y, Z et 29E.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES⁶

Les performances des **Difco Neisseria Meningitidis Antisera**, fabriqués par les laboratoires Difco, ont été comparées à deux autres tests commercialisés pour le groupage sérologique du méningocoque dans une étude menée par van der Ende, Schuurman, Hopman, Fijen et Dankert⁶. Un produit commercialisé utilise des anticorps de lapin et de souris dans des tests d'agglutination sur lame. L'autre produit commercialisé utilise des anticorps de lapin et de souris dans des tests d'agglutination au latex. Soixante-douze (72) souches de référence ont été utilisées pour cette étude.⁶

Le tableau ci-dessous liste le nombre d'isolats correctement identifiés obtenus pour chaque système de test.

Sérogroupe	Nb. d'échantillons	Agglutination sur lame avec les Difco Neisseria Meningitidis Antisera	Test d'agglutination sur lame commercialisé	Test commercialisé au latex
A	10	9	10	9
B	10	9	10	10
C	10	9	9	10
X	6	5	5	*
Y	9	7	9	9†
Z	4	1	4	*
W135	6	5	5	6†
29E (Z')	2	2	*	*
Autres sérogroupes et souches non encapsulées devant avoir un résultat de test négatif.	15	14/15	15/17‡	23/27‡
Total	72	61/72	67/72	67/72

* Les deux autres trousse commercialisées ne contiennent pas d'antisérums pour détecter les groupes X, Z et/ou 29E de *N. meningitidis*.

† Le test au latex ne peut pas différencier les sérogroupes Y et W135 de *N. meningitidis*.

‡ Le sérogroupe 29E et les sérogroupes X, Z et 29E sont aussi compris dans les tests commercialisés respectivement sur lame et au latex.

Dans cette étude, la sensibilité des **Difco Neisseria Meningitidis Antisera** était de 92 % et la spécificité de 67 %.⁶ En utilisant les antisérums seuls contre les sérogroupes communs, la sensibilité était de 93 % et la spécificité de 98 %.

CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
222321	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly , 1 mL
229101	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2 , 1 mL
222281	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A , 1 mL
222291	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp B , 1 mL
222301	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C , 1 mL
222311	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp D , 1 mL
228801	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp X , 1 mL
228811	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y , 1 mL
228911	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z , 1 mL
222521	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z' , 1 mL
222531	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135 , 1 mL
241110	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A , 1 mL, 100 unités / carton
241111	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C , 1 mL, 100 unités / carton
241112	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135 , 1 mL, 100 unités / carton
241113	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y , 1 mL, 100 unités / carton

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique "References" du texte anglais.

BD Difco Neisseria Meningitidis Antisera

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Es wird empfohlen, **Difco Neisseria Meningitidis Antisera** für Objektträger-Agglutinationstests zur Serotypisierung von *Neisseria meningitidis* zu verwenden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Neisseria meningitidis, auch bekannt als Meningokokkus, kann beim Menschen sowohl im Rachen- als auch im Nasenraum gefunden werden. Da der Organismus nur schlecht in der Umwelt überleben kann, sind Menschen der primäre Träger. Asymptomatische Personen können über einen unterschiedlich langen Zeitraum (üblicherweise mehrere Wochen) Träger sein. Die Mikroorganismen werden von einer Person an die nächste durch direkten Kontakt mit Sekretionen der Atemwege oder durch Tröpfcheninfektion übertragen.^{1,2}

Typisch menschliche Proben zur Isolierung des Organismus sind folgende: Rückenmarksflüssigkeit (CSF), Blut, Hautläsionen (in Fällen, in denen Petechiae auftritt) und nasopharyngeale Ausstriche. *N. meningitidis* tritt bei weiblichen Personen in der Cervix und in der Vagina auf und kann schwere Beckenkrankheiten hervorrufen. Andere Orte sind u.a. der Analkanal und die Harnröhre bei Männern.

N. meningitidis wird je nach Vorhandensein von Kapsel- oder Außenmembran-Proteinantigenen in serologische Gruppen unterteilt. Zu den derzeit bekannten Gruppen gehören A, B, C, D, 29E, H, I, K, L, X, Y, Z, Z' und W135. Die Gruppen A, B, C, Y und W135 sind am häufigsten an systemischen Krankheiten beteiligt.³ Andere Serogruppen wurden sporadisch von Trägern und erkrankten Patienten isoliert.

N. meningitidis sind gramnegative Kokken, die üblicherweise paarweise als so genannte Diplokokken auftreten. Sie sind streng aerob und produzieren das Enzym Cytochromoxidase. Das Wachstum von *N. meningitidis* wird in einer mit CO₂ angereicherten Atmosphäre verstärkt.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die Identifizierung von *N. meningitidis* umfasst die Isolierung des Mikroorganismus, die biochemische Identifizierung und die serologische Bestätigung.

Zur serologischen Bestätigung zählt die Reaktion, bei welcher der Mikroorganismus (Antigen) mit dem entsprechenden Antikörper reagiert. Bei dieser *In-vitro*-Reaktion kommt es zu makroskopischen Verklumpungen, der sogenannten Agglutination. Die gewünschte homologe Reaktion sollte rasch, ohne Dissoziation (hohe Avidität) und mit fester Bindung (hoher Affinität) erfolgen.

Da ein Mikroorganismus (Antigen) auch mit Antikörpern agglutinieren kann, die als Reaktion auf andere Spezies gebildet wurden, sind heterologe Reaktionen möglich. Diese zeichnen sich durch einen langsamen und schwachen Reaktionsverlauf aus. Derartig unerwartete und evtl. unvorhersehbare Reaktionen können bei der serologischen Identifizierung einige Verwirrung stiften. Daher sollte eine positive homologe Agglutinationsreaktion die morphologische und biochemische Identifizierung des Mikroorganismus unterstützen.

Homologe Reaktionen laufen schnell und heftig ab. Heterologe Reaktionen laufen langsam und schwach ab.

REAGENZIEN

Difco Neisseria Meningitidis Antisera sind stabile, lyophilisierte, polyklonale Kaninchen-Antisera und enthalten ca. 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel.

Difco Neisseria Meningitidis Antisera identifizieren folgende Antigengruppen:

Antiserum	Identifizierte Antigengruppe	Antiserum	Identifizierte Antigengruppe
Poly	A, B, C, D	D	D
Poly 2	X, Y, Z*	X	X*
W135	W135*	Y	Y*
A	A*	Z	Z*
B	B*	Z'	Z, Z**
C	C*		

*Nicht absorbiert für Gruppe D, die selten isoliert ist.

Bei korrekter Rehydratation und vorschriftsmäßiger Anwendung (siehe **Verfahren**) enthält jedes Fläschchen **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum eine ausreichende Reagenzienmenge für 20 Objektträger-Tests.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Die Verpackung dieses Produkts enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Verwendung aseptischer Techniken erfolgen. Nach Gebrauch sind Proben, Behälter, Objektträger, Röhrchen und sonstiges kontaminiertes Material im Autoklaven zu sterilisieren. Die Gebrauchsanleitung ist sorgfältig zu befolgen.

WARNUNG: Dieses Produkt enthält Natriumazid, das beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken sehr giftig ist. Bei Kontakt mit Säure entstehen hochgiftige Gase. Bei Kontakt mit der Haut sofort mit viel Wasser abwaschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Ansammlungen von Azid zu vermeiden.

Aufbewahrung

Lyophilisierte und rehydrierte **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera bei 2 bis 8 °C aufbewahren.

Werden die Reagenzien längere Zeit anderen Temperaturen ausgesetzt als vorgeschrieben, ist dies den Produkten abträglich.

Das Verfallsdatum gilt für das im unversehrten Behälter aufbewahrte Produkt bei Einhaltung der Lagervorschriften. Zusammenklebendes, verfärbtes oder sonstige Verfallsanzeichen aufweisendes Produkt nicht verwenden.

PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

N. meningitidis kann aus Blutagar oder Schokoladen-Agar gewonnen werden. Bezüglich spezifischer Empfehlungen in einschlägigen Quellen nachschlagen.^{4,5} Sicherstellen, dass eine Reinkultur des Mikroorganismus gewonnen wurde und die biochemischen Testreaktionen der Identifizierung des Organismus als *N. meningitidis* entsprechen. Wenn diese Kriterien erfüllt sind, kann die serologische Identifizierung durchgeführt werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Poly; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum A; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum B; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum C; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum D; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum X; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Y; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Z; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Z'; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum W135.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Agglutinations-Objektträger; Applikatorstäbchen; Steriles, destilliertes Wasser; Sterile, 0,85%ige; Kochsalzlösung; Bakteriologische Öse.

Vorbereitung der Reagenzien

Zum Rehydrieren des **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera 1 mL steriles, destilliertes Wasser zugeben und so lange drehen, bis der Inhalt vollständig gelöst ist.

Vor der Testdurchführung alle Materialien auf Zimmertemperatur äquilibrieren lassen. Sicherstellen, dass alle gläsernen Utensilien und Pipetten sauber sind und keine Rückstände aufweisen (wie bspw. von Reinigungsmitteln).

Qualitätssicherung durch den Anwender

Bei Anwendung sowohl positive als auch negative Kontrollen durchführen, um die Leistung der Antisera, die Techniken und die Methodik zu überprüfen.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI (ehemals NCCLS)-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

Testen des Isolats im Hinblick auf Autoagglutination

1. Eine Impföse voll Wachstum von der Testkultur auf Schokoladen-Agar zeinem Tropfen steriler 0,85%iger Kochsalzlösung auf einen sauberen Objektträger transferieren und den Organismus emulgieren.
2. Den Objektträger eine min lang drehen und anschließend im Hinblick auf Agglutination begutachten.
3. Falls es zu einer Agglutination (Autoagglutination) kommt, ist die Kultur grob und nicht zum Test geeignet. Eine Subkultur auf Schokoladen-Agar anlegen, inkubieren und den Organismus erneut testen, wie in den Schritten 1 und 2 beschrieben.
4. Kommt es nicht zu einer Agglutination, mit dem Testen des Organismus fortfahren.

Wahl der Antisera

Den Organismus zunächst mit **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera Poly, Poly 2, Gruppe Z' und Gruppe W135 testen. Je nach Reaktion die Tests entweder mit a, b oder c wie unten beschrieben fortfahren.

- a. Bei einer Agglutination mit **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera Poly oder Poly 2 den Organismus mit den angegebenen monospezifischen Antisera testen:

Bei einer positiven Reaktion mit diesem Antiserum.	Mit diesen Antisera erneut testen:
Poly Poly 2	A, B, C, und D X, Y, und Z

- b. Wenn eine Agglutination mit **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum der Gruppe Z' eintritt, den Organismus mit monospezifischem **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum der Gruppe Z testen. Kulturen von *N. meningitidis* der Gruppe Z' agglutinieren **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum der Gruppe Z nicht. Kulturen von *N. meningitidis* der Gruppe Z agglutinieren hingegen **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum der Gruppe Z'. Folgende Agglutinationsmuster sind zu erwarten:

Organismus	Neisseria Meningitidis Antiserum der Gruppe Z'	Neisseria Meningitidis Antiserum der Gruppe Z
<i>N. meningitidis</i> der Gruppe Z'	3+	-
<i>N. meningitidis</i> der Gruppe Z	+	3+

- c. Wenn eine Agglutination mit **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum W135 eintritt, sind keine weiteren Tests erforderlich.

Verfahrensschritte

1. Einen Tropfen des zu testenden **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum auf einen Agglutinations-Objektträger geben.
2. Eine Öse voll Testorganismus-Wachstum zu dem Tropfen Antiserum transferieren und gut mischen.
3. Den Objektträger eine min lang drehen und anschließend im Hinblick auf Agglutination begutachten.
4. Die Schritte 1 – 3 für bekannte positive und negative Kulturen wiederholen.

ERGEBNISSE

1. Die Ergebnisse werden folgendermaßen abgelesen und dokumentiert:
 - 4+ 100%ige Agglutination (Hintergrund klar bis leicht trüb)
 - 3+ 75%ige Agglutination (Hintergrund leicht wolkig)
 - 2+ 50%ige Agglutination (Hintergrund mäßig wolkig)
 - 1+ 25%ige Agglutination (Hintergrund wolkig)
 - Keine Agglutination
2. Die positive Kontrolle sollte eine Agglutination des Grades 3+ oder stärker aufweisen.
3. Die negative Kontrolle darf keine Agglutination aufweisen.
4. Beim Testen von Isolaten stellt eine innerhalb einer Minute erfolgende Agglutination des Grades 3+ oder stärker ein positives Ergebnis dar.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

1. Eine korrekte Interpretation der serologischen Reaktionen ist abhängig von der Reinheit der Kultur, den morphologischen Eigenschaften und biochemischen Reaktionen, die der Identifizierung des Mikroorganismus als *N. meningitidis* entsprechen.
2. Serologische Methoden allein können das Isolat nicht als *N. meningitidis* identifizieren. Nicht mit *Neisseria* verwandte Organismen, die jedoch Meningitis verursachen, sowie andere *Neisseria*-Spezies können eine Kreuzreaktion mit Meningokokken-Antisera zeigen.

- Übermäßige Wärme aus externen Quellen (heiße bakteriologische Öse, Brennerflamme, Lichtquelle u. dgl.) kann die glatte Suspension des Mikroorganismus verhindern oder zum Verdunsten oder Ausfällen des Testgemisches führen. Es kann zu falsch positiven Reaktionen kommen.
- Grobe Kulturisolate sind möglich; sie agglutinieren spontan und führen zur Agglutination negativer Kontrollen (Autoagglutination). Es sind glatte Kolonien zu wählen und mit serologischen Verfahren zu testen.
- Es kann zu Kreuzreaktionen von *N. meningitidis* der Gruppen A und C in Anwesenheit von gewöhnlichen Kapsel-Polysacchariden kommen.
- Meningokokken der Gruppe Z können Antiserum der Gruppe Z' agglutinieren. Meningokokken der Gruppe Z' können Antiserum der Gruppe Z nicht agglutinieren.
- Difco** Neisseria Meningitidis Antisera wurden unter Verwendung unverdünnter Kulturen aus Agar-Medien getestet. Diese Antiseren wurden nicht mit Antigen-Suspensionen in Kochsalzlösung oder sonstigen Verdünnungsmitteln getestet. Weicht der Anwender von den empfohlenen Schritten (siehe **Verfahren**) ab, ist jede Charge des Antiserums mit bekannten Kontrollkulturen zu testen, um die erwarteten Reaktionen bei dem modifizierten Verfahren zu bestätigen.
- Erscheinen die rehydrierten **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera zu irgendeinem Zeitpunkt während der Verwendung wolkig oder weisen Ausfällungen auf, sind sie zu verwerfen.
- Konfirmative Tests werden bei ungewöhnlichen Serogruppen wie X, W135, Y, Z und 29E empfohlen.

LEISTUNGSMERKMALE⁶

Die Leistung von **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera, hergestellt von Difco Laboratories, wurde in einer Studie von van der Ende, Schuurman, Hopman, Fijen und Dankert mit zwei anderen handelsüblichen Tests für die serologische Gruppierung von Meningokokken verglichen.⁶ Ein handelsübliches Produkt verwendete Antikörper vom Kaninchen und der Maus bei Objektträger-Agglutinationstests. Das andere handelsübliche Produkt verwendete Antikörper vom Kaninchen und der Maus in den Latex-Agglutinationstests. In dieser Studie wurden zweiundsiebzig (72) Referenzstämme verwendet.⁶

Die nachstehende Tabelle führt die Anzahl der korrekt identifizierten Isolate für jedes Testsystem auf.

Serogruppe	Anzahl Proben	Objektträger-Agglutination mit Difco Neisseria Meningitidis Antisera	Handelsüblicher Objektträger-Agglutinationstest	Handelsüblicher Latextest
A	10	9	10	9
B	10	9	10	10
C	10	9	9	10
X	6	5	5	*
Y	9	7	9	9†
Z	4	1	4	*
W135	6	5	5	6†
29E (Z')	2	2	*	*
Andere Serogruppen und nicht gekapselte Stämme, die bei diesem Test negativ sein sollten.	15	14/15	15/17‡	23/27‡
Total	72	61/72	67/72	67/72

* Die zwei (2) anderen handelsüblichen Testkits enthalten keine Antiseren zur Feststellung von *N. meningitidis* der Gruppen X, Z und 29E.

† Beim Latextest lässt sich nicht zwischen den Serogruppen Y und W135 von *N. meningitidis* unterscheiden.

‡ Serogruppe 29E und Serogruppe X, Z und 29E werden auch jeweils beim handelsüblichen Objektträger- und Latextest getestet.

In dieser Studie lag die Empfindlichkeit von **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera bei 92 % und die Spezifität bei 67 %.⁶ Bei ausschließlicher Verwendung von Antiseren gegen die allgemeinen Serogruppen A, B, C zur serologischen Gruppierung lag die Sensitivität bei 93 % und die Spezifität bei 98 %.⁶

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
222321	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly, 1 mL
229101	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2, 1 mL
222281	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A, 1 mL
222291	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp B, 1 mL
222301	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C, 1 mL
222311	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp D, 1 mL
228801	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp X, 1 mL
228811	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y, 1 mL
228911	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z, 1 mL
222521	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z', 1 mL
222531	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135, 1 mL
241110	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A, 1 mL, 100 Einheiten / Verkaufsverpackung
241111	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C, 1 mL, 100 Einheiten / Verkaufsverpackung
241112	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135, 1 mL, 100 Einheiten / Verkaufsverpackung
241113	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y, 1 mL, 100 Einheiten / Verkaufsverpackung

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.



BD Difco Neisseria Meningitidis Antisera

Italiano

USO PREVISTO

L'uso dei **Difco Neisseria Meningitidis Antisera** è indicato nei test di agglutinazione su piastra per la sierotipizzazione della *Neisseria meningitidis*.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Neisseria meningitidis, conosciuta anche con il nome di meningococco, si trova nella orofaringe e nella rinofaringe degli esseri umani. Data la scarsa sopravvivenza dell'organismo nell'ambiente, il vivaio principale è costituito dagli esseri umani. In persone asintomatiche, lo stato di portatore dura periodi di tempo variabili, di solito alcune settimane. Il microrganismo si trasmette tra persone per contatto diretto con secrezioni respiratorie o goccioline veicolate dall'aria.^{1,2}

I campioni umani tipicamente adatti ad isolare l'organismo sono: il fluido cerebrospinale (CSF), il sangue, le lesioni cutanee (nei casi in cui si manifestano petecchie) e i tamponi rinofaringei. *N. meningitidis* si manifesta nelle zone cervicali e vaginali di persone di sesso femminile, e può provocare gravi disturbi pelvici. Altre zone sono il canale anale e, nei maschi, l'uretra.

N. meningitidis è divisa in due gruppi sierologici in base alla presenza di antigeni delle proteine della membrana esterna o capsulare. Tra i gruppi attualmente riconosciuti vi sono A, B, C, D, 29E, H, I, K, L, X, Y, Z, Z' e W135. I gruppi A, B, C, Y e W135 sono più frequentemente implicati in disturbi sistemici.³ Altri sierogruppi sono sporadicamente isolati dai portatori e dai pazienti malati.

N. meningitidis sono cocchi gram-negativi spesso presenti a coppie chiamate diplococchi. Essi sono microrganismi aerobi stretti e producono l'enzima citocromo ossidasi. La crescita di *N. meningitidis* viene potenziata con atmosfera arricchita di CO₂.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il riconoscimento del *N. meningitidis* include l'isolamento del microrganismo, l'identificazione biochimica e la conferma sierologica.

La conferma sierologica include la reazione in cui il microrganismo (antigene) reagisce con l'anticorpo corrispondente. Questa reazione *in vitro* produce grumi macroscopici, un fenomeno chiamato agglutinazione. La reazione tra omologhi desiderata avviene con rapidità, non è dissociante (elevata avidità) e fortemente legante (elevata affinità).

Esiste la possibilità di reazioni tra eterologhi, in quanto un microrganismo (antigene) può agglutinare un anticorpo prodotto in risposta ad alcune altre specie. Queste sono caratterizzate da scarsa resistenza e formazione lenta. Simili reazioni, impreviste e, forse, imprevedibili, possono ingenerare confusione nel riconoscimento sierologico. Una reazione di agglutinazione positiva tra omologhi deve essere consistente con l'identificazione morfologica e biochimica del microrganismo.

Le reazioni tra omologhi hanno un rapido svolgimento e sono resistenti. Le reazioni tra eterologhi sono deboli e la loro formazione è lenta.

REAGENTI

I **Difco Neisseria Meningitidis Antisera** sono antisieri policlonali di coniglio, stabili e liofilizzati, contenenti circa 0,1% di sodio azide come conservante.

I **Difco Neisseria Meningitidis Antisera** rilevano i seguenti gruppi antigenici:

Antisiero	Groupe d'antigènes détecté	Antisiero	Groupe d'antigènes détecté
Poly	A, B, C, D	D	D
Poly 2	X, Y, Z*	X	X*
W135	W135*	Y	Y*
A	A*	Z	Z*
B	B*	Z'	Z, Z'*
C	C*		

*Non assorbito per il gruppo D, che viene isolato di rado.

Ciascun flacone di **Difco Neisseria Meningitidis Antiserum**, se correttamente reidratato e usato come descritto (vedere **Procedura**), contiene reagente sufficiente per 20 test su piastra.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale secca.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, sterilizzare in autoclave campioni, contenitori, vetrini, provette e tutti gli altri materiali contaminati. Seguire attentamente le istruzioni per l'uso.

AVVERTENZA: Questo prodotto contiene sodio azide, tossica per inalazione, ingestione e a contatto con la pelle. A contatto con acido, libera gas estremamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Eliminare la sodio azide facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

Conservazione

Conservare gli antisieri **Difco Neisseria Meningitidis Antisera** liofilizzati e reidratati a 2 – 8 °C.

L'esposizione prolungata dei reagenti a temperature diverse da quelle indicate può danneggiare i prodotti.

La data di scadenza si riferisce al prodotto nel contenitore intatto e conservato come prescritto. Non usare il prodotto se appare indurito, scolorito o presenta altri segni di deterioramento.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

N. meningitidis può essere recuperato su agar sangue o su agar cioccolato. Per specifiche informazioni, consultare gli opportuni riferimenti.^{4,5} Stabilire che la coltura del microrganismo sia pura e che le reazioni biochimiche siano coerenti con l'identificazione dell'organismo come *N. meningitidis*. Una volta soddisfatti questi criteri, è possibile eseguire l'identificazione sierologica.

PROCEDIMENTO

Materiali forniti: Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum A; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum B; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum C; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum D; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum X; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Y; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Z; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Z'; Difco Neisseria Meningitidis Antiserum W135.

Materiali necessari ma non forniti: Piastre di agglutinazione; Stick di applicazione; Acqua depurata sterile; Soluzione fisiologica sterile allo 0,85%; Ansa batteriologica.

Preparazione dei reagenti

Per reidrattare Difco Neisseria Meningitidis Antiserum, aggiungere 1 mL di acqua depurata e sterile e roteare per dissolvere completamente il contenuto.

Prima di eseguire le analisi, lasciare equilibrare tutti i materiali a temperatura ambiente. Assicurarsi che tutta la vetreria e le pipette siano pulite e prive di residui di detergente o altro.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Al momento dell'uso, testare le colture di controllo positiva e negativa per verificare le performance degli antisieri, le tecniche e la metodologia.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI (già NCCLS) in merito.

Test di agglutinazione dell'isolato

1. Dalla coltura su agar cioccolato, prelevare con un'ansa un'aliquota di crescita, trasferirla su una goccia di soluzione fisiologica sterile allo 0,85% su un vetrino pulito ed emulsificare l'organismo.
2. Roteare il vetrino per 1 min e poi osservare l'agglutinazione.
3. Se si verifica agglutinazione (autoagglutinazione), la coltura è disomogenea e non può essere analizzata. Eseguire una subcoltura su agar cioccolato, incubare e testare di nuovo l'organismo come descritto nei passaggi 1 e 2.
4. Se l'agglutinazione non si verifica, procedere con il test sull'organismo.

Scelta degli antisieri

Testare l'organismo prima con Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly, Poly 2, Gruppo Z' e Gruppo W135. In base alla reazione ottenuta, continuare la prova secondo a, b o c riportati nell'elenco sotto.

- a. Se si verifica agglutinazione con Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly o Poly 2, testare l'organismo con l'antisiero monospecifico indicato:

In caso di reazione positiva con questo antisiero:	Ripetere il test con i seguenti antisieri:
Poly Poly 2	A, B, C, e D X, Y, e Z

- b. Se si verifica agglutinazione con Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gruppo Z', testare l'organismo con Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gruppo Z' monospecifico. Le colture di *N. meningitidis* gruppo Z' non agglutineranno Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gruppo Z. Tuttavia, le colture di *N. meningitidis* gruppo Z agglutineranno Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gruppo Z'. I previsti modelli di agglutinazione sono:

Microrganismo	Neisseria Meningitidis Antiserum Gruppo Z'	Neisseria Meningitidis Antiserum Gruppo Z
<i>N. meningitidis</i> gruppo Z'	3+	-
<i>N. meningitidis</i> gruppo Z	+	3+

- c. Se si verifica agglutinazione con Difco Neisseria Meningitidis Antiserum W135, non sono necessarie ulteriori prove.

Passaggi della procedura

1. Dispensare su una piastra di agglutinazione 1 goccia di Difco Neisseria Meningitidis Antiserum da analizzare.
2. Prelevare con un'ansa un'aliquota di crescita dell'organismo da testare, trasferirla sulla goccia di antisiero e mescolare accuratamente.
3. Roteare la piastra per 1 min e poi leggere il risultato di agglutinazione.
4. Ripetere i passaggi 1 – 3 per ciascuna coltura positiva e negativa nota.

RISULTATI

1. Leggere e registrare i risultati come segue.
 - 4+ 100% di agglutinazione (sfondo da trasparente a leggermente appannato)
 - 3+ 75% di agglutinazione (sfondo leggermente torbido)
 - 2+ 50% di agglutinazione (sfondo moderatamente torbido)
 - 1+ 25% di agglutinazione (sfondo torbido)
 - Nessuna agglutinazione
2. Il controllo positivo deve fornire un risultato di agglutinazione pari a 3+ o superiore.

- Il controllo negativo non deve evidenziare alcuna agglutinazione.
- Per il test degli isolati, si considera positivo un risultato di agglutinazione pari a 3+ o superiore entro 1 min.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- La corretta interpretazione delle reazioni sierologiche dipende dalla purezza della coltura e dall'osservazione di caratteristiche morfologiche e reazioni biochimiche coerenti con l'identificazione del microrganismo come *N. meningitidis*.
- I metodi sierologici da soli non sono in grado di identificare l'isolato come *N. meningitidis*. Gli organismi non correlati alla *Neisseria*, comunque capaci di provocare meningitis possono avere reazioni incrociate con gli antisieri dei meningococchi.
- Il calore eccessivo da fonti esterne (ansa batteriologica calda, fiamma di bruciatore, sorgente di illuminazione, ecc.) può impedire la sospensione omogenea del microrganismo o causare evaporazione o precipitazione della miscela da analizzare e dar luogo a reazioni false positive.
- Le colture disomogenee di isolati sono soggette ad agglutinazione spontanea con conseguente agglutinazione dei controlli negativi (autoagglutinazione). Per le procedure sierologiche è necessario selezionare ed analizzare colonie omogenee.
- N. meningitidis* gruppo A e gruppo C possono avere reazioni incrociate per la presenza di polisaccaridi capsulari comuni.
- I meningococchi del gruppo Z possono agglutinare l'antisiero del gruppo Z'. I meningococchi del gruppo Z' non agglutineranno l'antisiero del gruppo Z.
- I **Difco** *Neisseria Meningitidis* Antisera sono stati analizzati utilizzando colture non diluite prelevate da terreni agar. Questi antisieri non sono stati testati con sospensioni di antigeni in soluzione fisiologica o in altri diluenti. Se l'operatore introduce delle variazioni nei passaggi raccomandati per la procedura (vedere **Procedura**), ciascun lotto di antisiero deve essere testato con colture di controllo per verificare le reazioni previste in base alla procedura modificata.
- I **Difco** *Neisseria Meningitidis* Antisera reidratati che si presentano torbidi o hanno un precipitato in fase di utilizzo dovranno essere eliminati.
- È consigliabile effettuare test di conferma dei sierogruppi X, W135, Y, Z e 29E, non comuni.

PERFORMANCE⁶

Le performance di **Difco** *Neisseria Meningitidis* Antisera, prodotto da **Difco** Laboratories, è stato confrontato con altri due test disponibili in commercio per il raggruppamento sierologico dei meningococchi in uno studio condotto da van der Ende, Schuurman, Hopman, Fijen e Dankert.⁶ Uno dei due prodotti in commercio utilizzava anticorpi di coniglio e di topo nei test di agglutinazione su vetrino. L'altro prodotto in commercio utilizzava anticorpi di coniglio e di topo in test di agglutinazione al latex. In questo studio, sono state impiegate settantadue (72) famiglie di riferimento.⁶

La tabella sotto elenca il numero degli isolati identificati correttamente da ciascun sistema di prova.

Sierogruppo	N. di campioni	Agglutinazione su vetrino con Difco <i>Neisseria Meningitidis</i> Antisera	Test di agglutinazione su vetrino in commercio	Test al latex in commercio
A	10	9	10	9
B	10	9	10	10
C	10	9	9	10
X	6	5	5	*
Y	9	7	9	9†
Z	4	1	4	*
W135	6	5	5	6†
29E (Z')	2	2	*	*
Altri sierogruppi e famiglie non incapsulate negative al test	15	14/15	15/17‡	23/27‡
Total	72	61/72	67/72	67/72

* Gli altri 2 kit in commercio non contengono antisieri per rilevare la presenza di *N. meningitidis* gruppi X, Z e/o 29E.

† Il test al latex non è in grado di distinguere tra *N. meningitidis* sierogruppi Y e W135.

‡ Il sierogruppo 29E ed i sierogruppi X, Z e 29E sono anch'essi rispettivamente inclusi nei test su vetrino e al latex in commercio.

In tale studio, la sensibilità del **Difco** *Neisseria Meningitidis* Antisera è stata del 92% e la specificità è stata del 67%.⁶ Utilizzando esclusivamente antisieri per i sierogruppi comuni A, B, C per il raggruppamento in sierogruppi, la sensibilità è stata del 93% e la specificità è stata del 98%.⁶

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
222321	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly, 1 mL
229101	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2, 1 mL
222281	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A, 1 mL
222291	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp B, 1 mL
222301	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C, 1 mL
222311	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp D, 1 mL
228801	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp X, 1 mL
228811	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y, 1 mL
228911	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z, 1 mL
222521	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z', 1 mL
222531	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135, 1 mL
241110	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A, 1 mL, 100 unità/confezione
241111	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C, 1 mL, 100 unità/confezione
241112	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135, 1 mL, 100 unità/confezione
241113	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y, 1 mL, 100 unità/confezione

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

BD Difco Neisseria Meningitidis Antiserum

Español

USO PREVISTO

Difco Neisseria Meningitidis Antiserum (antisueros para Neisseria meningitidis **Difco**) están recomendados para uso en pruebas de aglutinación en portaobjetos para la determinación del serotipo *Neisseria meningitidis*.

RESUMEN Y EXPLICACION

La *Neisseria meningitidis*, también conocida como meningococcus, se encuentra en la orofaringe y nasofaringe de los seres humanos. Dado que el organismo sobrevive con dificultad en el entorno, los humanos son su reservorio principal. En personas asintomáticas, el estado de portador perdura por tiempos variables, habitualmente varias semanas. El microorganismo se transmite de una persona a otra mediante contacto directo con las secreciones respiratorias o gotitas en el aire^{1,2}.

Las muestras humanas características para aislar el organismo son las siguientes: líquido cefalorraquídeo (LCR), sangre, lesiones cutáneas (en casos donde ocurra petequia) y torundas nasofaríngeas. *N. meningitidis* se hospeda en el cuello del útero de la vagina de las mujeres y puede causar una grave enfermedad pélvica. Otros sitios son el conducto anal y, en los hombres, la uretra.

N. meningitidis se divide en grupos serológicos basados en la presencia de antígenos de proteína capsular o de membrana externa. Entre los grupos actualmente reconocidos se incluyen A, B, C, D, 29E, H, I, K, L, X, Y, Z, Z' y W135. Los grupos A, B, C, Y y W135 son los que aparecen con mayor frecuencia en la enfermedad sistémica³. Otros serogrupos se aíslan de manera esporádica de portadores y pacientes con la enfermedad.

N. meningitidis son cocos gram negativos que habitualmente ocurren en pares que se denominan diplococos. Se trata de aerobios estrictos y producen la enzima citocromo oxidasa. El crecimiento de *N. meningitidis* se ve favorecido por la atmósfera enriquecida con CO₂.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La identificación de *N. meningitidis* incluye el aislamiento del microorganismo, la identificación bioquímica y la confirmación serológica.

La confirmación serológica se produce mediante la reacción en la que el microorganismo (antígeno) reacciona con el anticuerpo correspondiente. Esta reacción *in vitro* produce la formación de grumos macroscópicos denominada aglutinación. La reacción homóloga deseada es rápida, de unión fuerte (alta afinidad) y no disociativa (alta avidéz).

Dado que un microorganismo (antígeno) puede aglutinarse con un anticuerpo producido como respuesta a alguna otra especie, son posibles las reacciones heterólogas, que se caracterizan por ser débiles y de lenta formación. Dichas reacciones imprevistas y posiblemente impredecibles pueden causar confusión en la identificación serológica. Por consiguiente, una reacción de aglutinación homóloga positiva debería apoyar la identificación morfológica y bioquímica del microorganismo.

Las reacciones homólogas son fuertes y rápidas. Las reacciones heterólogas son débiles y lentas.

REACTIVOS

Difco Neisseria Meningitidis Antiserum son antisueros de conejo policlonales, estables, liofilizados que contienen aproximadamente 0,1% de azida sódica como conservante.

Difco Neisseria Meningitidis Antiserum detectan los siguientes grupos de antígenos.

Antisuero	Grupo de antígeno detectado	Antisuero	Grupo de antígeno detectado
Poly	A, B, C, D	D	D
Poly 2	X, Y, Z*	X	X*
W135	W135*	Y	Y*
A	A*	Z	Z*
B	B*	Z'	Z, Z'
C	C*		

*No absorbido para grupo D, que se aísla raramente.

Cuando se rehidrata correctamente y se utiliza según lo descrito (véase **Procedimiento**), cada frasco de **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum contiene suficiente reactivo para realizar 20 pruebas en portaobjetos.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

El envase de este producto contiene goma natural seca.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo los procedimientos. Después del uso, se deberán esterilizar muestras, envases, portaobjetos, tubos y demás material contaminado en autoclave. Es necesario seguir al pie de la letra las instrucciones de uso.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica, la cual es tóxica en caso de inhalación, contacto con la piel e ingestión. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lavar de inmediato el área afectada con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Al eliminar el material por el desagüe, utilizar un gran volumen de agua para evitar la acumulación de azidas.

Almacenamiento:

Conservar **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera, liofilizados y rehidratados, a una temperatura de 2 – 8 °C.

Una exposición prolongada de los reactivos a temperaturas diferentes de las especificadas es perjudicial para los productos.

La fecha de caducidad se aplica al producto conservado en su envase intacto de la forma indicada. No utilizar si el producto está aglutinado o descolorido, o si evidencia otras señales de deterioro.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

N. meningitidis se puede recuperar de agar sangre o agar chocolate. Consultar las referencias correspondientes para obtener recomendaciones específicas^{4,5}. Determinar que se ha obtenido un cultivo puro de microorganismo y que las reacciones de las pruebas bioquímicas sean acordes con la identificación del organismo como *N. meningitidis*. Después de haberse satisfecho estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Poly; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum A; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum B; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum C; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum D; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum X; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Y; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Z; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Z'; **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum W135.

Materiales necesarios pero no suministrados: Portaobjetos de aglutinación; Aplicadores; Agua purificada estéril; Solución salina al 0.85% estéril; Asa bacteriológica.

Preparación del reactivo

Para rehidratar **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera, añadir 1 mL de agua purificada estéril y girar suavemente para disolver completamente el contenido.

Equilibrar todos los materiales a temperatura ambiente antes de realizar las pruebas.

Asegurarse de que el material de vidrio y las pipetas estén limpios y libres de residuos, como, por ejemplo, detergente.

Control de calidad del usuario

En el momento de uso, analizar los cultivos de control tanto positivos como negativos para comprobar el rendimiento de los antisueros, las técnicas y la metodología.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI (antes NCCLS) y normativas de CLIA correspondientes, para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

Análisis de la cepa aislada para determinar la autoaglutinación

1. A partir de un cultivo de prueba en agar chocolate, transferir un asa llena de crecimiento a una gota de solución salina al 0,85% estéril en un portaobjetos limpio, y emulsionar el organismo.
2. Girar el portaobjetos durante 1 min y luego observar para determinar si se ha producido aglutinación.
3. Si ocurre la aglutinación (autoaglutinación), el cultivo es rugoso y no se podrá analizar. Realizar un subcultivo en agar chocolate, incubarlo y volver a analizar el organismo tal como se describe en los pasos 1 y 2.
4. Si no ocurre ningún tipo de aglutinación, realizar el análisis del organismo.

Selección de antisueros

Realizar una prueba del organismo primero con **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera Poly, Poly 2, Group Z' y Group W135. Según la reacción, continuar la prueba de acuerdo a los puntos a, b o c que se enumeran a continuación.

- a. Si la aglutinación ocurre con **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera Poly o Poly 2, realizar la prueba de organismo con los antisueros monoespecíficos indicados.

Si la reacción es positiva con este antisuero:	Volver a repetir la prueba con estos antisueros:
Polyvalent Poly 2	A, B, C, y D X, Y, y Z

- b. Si la aglutinación ocurre con **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z', realizar la prueba del organismo con **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z monoespecífico. Los cultivos de *N. meningitidis* group Z' no aglutinarán **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z. Sin embargo, los cultivos de *N. meningitidis* group Z aglutinarán **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z'. Los patrones de aglutinación previstos son los siguientes:

Organismo	Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z'	Neisseria Meningitidis Antiserum Group Z
<i>N. meningitidis</i> group Z'	3+	-
<i>N. meningitidis</i> group Z	+	3+

- c. Si la aglutinación ocurre con **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum W135, no es necesario realizar más pruebas.

Pasos del procedimiento

- Colocar 1 gota de **Difco** Neisseria Meningitidis Antiserum a ser analizado en un portaobjetos de aglutinación.
- Transferir un asa llena de crecimiento del organismo de prueba a la gota de antisuero y mezclar bien.
- Girar el portaobjetos durante 1 min y efectuar la lectura para determinar si se ha producido aglutinación.
- Repetir los pasos 1 a 3 para cultivos que se conocen como positivos y negativos.

RESULTADOS

- Efectuar la lectura y registrar los resultados de la siguiente forma:
 - 4+ 100% de aglutinación (fondo transparente a ligeramente lechoso)
 - 3+ 75% de aglutinación (fondo ligeramente turbio)
 - 2+ 50% de aglutinación (fondo moderadamente turbio)
 - 1+ 25% de aglutinación (fondo turbio)
 - Sin aglutinación
- El control positivo debe indicar una aglutinación de 3+ o más.
- El control negativo no debe mostrar ningún indicio de aglutinación.
- Para las cepas aisladas del análisis, un valor de aglutinación de 3+ o más al cabo de 1 min indica un resultado positivo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La interpretación correcta de las reacciones serológicas depende de la pureza del cultivo, de sus características morfológicas y de las reacciones bioquímicas que sean acordes con la identificación del microorganismo como perteneciente a la especie *N. meningitidis*.
- Los métodos serológicos de por sí solos no pueden identificar el aislado como *N. meningitidis*. Los organismos no relacionados con *Neisseria*, pero capaces de hacer que meningitis y otras especies de *Neisseria* puedan producir una reacción cruzada con antisueros de meningococos.
- El calor excesivo proveniente de fuentes externas (asa bacteriológica caliente, llama del mechero, fuente de luz, etc.) podría impedir una suspensión uniforme del microorganismo o causar la evaporación o precipitación de la mezcla de análisis. Pueden ocurrir reacciones positivas falsas.
- Efectivamente ocurren cepas aisladas de cultivos rugosos, las cuales se aglutinarán espontáneamente, lo que causa aglutinación de los controles negativos (autoaglutinación). Es necesario seleccionar y analizar colonias uniformes en los procedimientos serológicos.
- N. meningitidis* grupo A y grupo C pueden presentar una reacción cruzada debido a la presencia de polisacáridos capsulares en común.
- Los meningococos del grupo Z pueden aglutinar el antisuero del grupo Z'. Los meningococos del grupo Z' aglutinarán el antisuero del grupo Z.
- Se han analizado los **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera usando cultivos sin diluir tomados a partir de medios de agar. Estos antisueros no han sido analizados usando suspensiones de antígenos en solución salina o ni en otros diluyentes. Si el usuario aplica variaciones a los pasos recomendados (véase **Procedimiento**), cada lote de antisuero se deberá analizar con cultivos de control conocidos para verificar las reacciones previstas según el procedimiento modificado.
- Difco** Neisseria Meningitidis Antisera rehidratado con turbidez o precipitado durante el período de uso debe descartarse.
- Se sugiere realizar una prueba de confirmación de serogrupos X, W135, Y, Z y 29E poco comunes.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO⁶

El rendimiento de **Difco** Neisseria Meningitidis Antisera, fabricado por Difco Laboratories, se comparó con otras dos pruebas disponibles comercialmente para la determinación de grupos serológicos de meningococos en un estudio realizado por van der Ende, Schuurman, Hopman, Fijen y Dankert.⁶ Un producto comercial utilizó anticuerpos de conejo y de ratón en pruebas de aglutinación en portaobjetos. El otro

producto comercial utilizó anticuerpos de conejo y de ratón en pruebas de aglutinación de látex. Se utilizaron setenta y dos (72) cepas de referencia en este estudio.⁶

En la tabla siguiente se enumeran varios aislados correctamente identificados obtenidos con cada sistema de prueba.

Serogrupo	Cantidad de muestras	Aglutinación en portaobjetos utilizando Difco Neisseria Meningitidis Antiserum	Prueba de aglutinación en portaobjetos comercial.	Prueba de látex disponible comercialmente
A	10	9	10	9
B	10	9	10	10
C	10	9	9	10
X	6	5	5	*
Y	9	7	9	9†
Z	4	1	4	*
W135	6	5	5	6†
29E (Z')	2	2	*	*
Otros serogrupos y cepas no encapsuladas que deben dar resultado negativo con la prueba.	15	14/15	15/17‡	23/27‡
Total	72	61/72	67/72	67/72

* Los otros 2 equipos comerciales no contienen antisueros para detectar *N. meningitidis* grupos X, Z y/o 29E.

† La prueba de látex no puede distinguir entre *N. meningitidis*, serogrupos Y y W135.

‡ El serogrupo 29E y los serogrupos X, Z y 29E también se incluyen en las pruebas en portaobjetos y de látex comerciales, respectivamente.

En este estudio la sensibilidad de **Difco Neisseria Meningitidis Antiserum** fue del 92% y la especificidad fue del 67%.⁶ Al utilizar solamente antisueros contra los serogrupos comunes A, B, C para la determinación de serogrupo, la sensibilidad fue del 93% y la especificidad, del 98%.⁶

DISPONIBILIDAD

Nº réf.	Descripción
222321	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly , 1 mL
229101	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Poly 2 , 1 mL
222281	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A , 1 mL
222291	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp B , 1 mL
222301	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C , 1 mL
222311	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp D , 1 mL
228801	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp X , 1 mL
228811	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y , 1 mL
228911	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z , 1 mL
222521	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Z' , 1 mL
222531	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135 , 1 mL
241110	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp A , 1 mL, paquete de 100 unidades
241111	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp C , 1 mL, paquete de 100 unidades
241112	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp W135 , 1 mL, paquete de 100 unidades
241113	Difco Neisseria Meningitidis Antiserum Gp Y , 1 mL, paquete de 100 unidades

BIBLIOGRAFIA: Ver "Referencias" en el texto en inglés.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производитель / Аткарушы



Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / Используйте до / А се utiliza până la / Son kulanma tarihi / Upotrebiti do / Использовать до / дейін пайдалануға / Upotrijebiti do / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) / AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) / AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu) / aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) / ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) / AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) / YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) / GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) / ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) / ЖӨЖӨЖ-АА-КК / ЖӨЖӨЖ-АА (АА = айдың соңы) / GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numarası / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог нөмірі



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизиран представител в EU / Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Autorizuirani predstavnik u EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomůcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimit / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Temperatur limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Οριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sicaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dozvoljena temperatura



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Numār lot (Lotul) / Parti Kodu (Lot) / Kod serije / Код партии (лот) / Топтама коды / Lot (kod)



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contêmo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Достаточно для <n> тестов(а) / <n> тесттері үшін жеткілікті / Sadržaj za (n) testova



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Koristi upute za upotrebu



Control / Kontrola / Kontrol / Controle / Kontroll / Kontrolli / Contrôle / Kontrolle / Έλεγχος / Controllo / Kontrolé / Controllo / Управление / Etalon Etalon / Контроль / Бақылау



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland

Difco is a trademark of Difco Laboratories, Inc., a subsidiary of Becton, Dickinson and Company. BD and BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2010 BD.