



Directigen

Meningitis Individual Tests

Do wykrywania *Haemophilus influenzae* typu b, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* grupy B lub *Neisseria meningitidis* grupy B/*Escherichia coli* K1.



0216647JAA(02)
2015-02
Polski

PRZEZNACZENIE

Testy w kierunku zapalenia opon mózgowych **BD Directigen Meningitis Individual Tests** są lateksowymi testami aglutynacyjnymi w postaci płytek szklanych, służącymi w ramach wstępnej diagnostyki do bezpośredniego wykrywania jakościowego w płynie mózgowo rdzeniowym, surowicy lub moczu antygenów następujących bakterii: *H. influenzae* typu b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* grupy B oraz *Escherichia coli* K1. Test może być wykorzystywany również do bezpośredniej analizy jakościowej w płynie mózgowo rdzeniowym i surowicy antygenów *Streptococcus* grupy B. Ponadto zestaw testowy umożliwia potwierdzenie i określenie w podejrzanych koloniach przynależności do grup serologicznych bakterii: *H. influenzae* typu b, *S. pneumoniae*, *Streptococcus* grupy B oraz *N. meningitidis* grupy B. Widoczna aglutynacja ma miejsce wówczas, gdy próbka zawierająca którykolwiek z antygenów wspomnianych bakterii reaguje z odpowiadającymi im przeciwciałami, pokrywającymi powierzchnię kulek lateksowych.

STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Rozpoznanie bakteriemii oraz zapalenia opon mózgowych może być trudne, zwłaszcza u małych dzieci. Nawet 55% dzieci po badaniu lekarskim rozpoczyna kurację antybiotykową, zanim zostanie wykryte zapalenie opon mózgowych.¹ Wykrywanie antygenów bakteryjnych w płynie mózgowo rdzeniowym stanowi szybką i pomocną metodę diagnostyki mikrobiologicznej. W przypadkach częściowego wyleczenia zapalenia opon mózgowych może być najważniejszym badaniem, gdyż barwienie metodą Grama oraz posiew mogą dawać wyniki ujemne. Wykrycie swoistego antygeny jest istotnym klinicznie wynikiem i cenną pomocą w wyborze terapii przeciwbakteryjnej.²

Haemophilus influenzae typu b, *Neisseria meningitidis* oraz *Streptococcus pneumoniae* są trzema czynnikami przyczyniającymi się do około 84% przypadków bakteryjnego zapalenia opon mózgowych.³

W przypadku noworodków głównymi patogenami bakteryjnymi są: *Streptococcus* grupy B oraz *Escherichia coli* K1.⁴⁻⁷ Szczepki paciorkowców grupy B oraz *E. coli* K1 często mają kolonie w pochwie i/lub odbycie i mogą wiązać się z przypadkami posocznicy matek i noworodków, zapalen płuc i opon mózgowych.⁸ Wykazano, że antygen polisacharydowy *E. coli* K1 jest strukturalnie i immunologicznie podobny do antygeny *Neisseria meningitidis* grupy B.^{9,10} Odczynnik lateksowy **BD Directigen** w kierunku *Neisseria meningitidis* grupy B nie różnicuje obu wspomnianych antygenów, jednakże może być użyteczny w diagnozowaniu zapalenia opon u noworodków, wywołanego przez *E. coli* K1. Wysoki wskaźnik chorobowy i duża umieralność noworodków w związku z zakażeniem paciorkowcami grupy B oraz *E. coli* K1 powodują, że kwestia szybkiej i dokładnej identyfikacji tych drobnoustrojów staje się problemem najwyższej wagi.⁴

Immunologiczne metody wykrywania charakterystycznych egzoantygenów drobnoustrojów patogennych w płynach ustrojowych chorego (płyn mózgowo rdzeniowy, surowica, moczu) są zwykle szybsze od metod tradycyjnych, takich jak posiew. Wspomniane techniki immunologiczne to immunoelektroforeza przeciwpłądowa (CIE) i aglutynacja lateksowa.¹¹⁻¹⁴ Technika aglutynacji lateksowej okazała się w wykrywaniu oczyszczzonego antygeny szybsza i bardziej czuła niż immunoelektroforeza.¹⁵⁻¹⁷

ZASADA PROCEDURY

Swoiste przeciwciała są związane z powierzchnią kulek lateksowych. W obecności swoistych antygenów agregacja cząstek lateksu jest wystarczająco nasiloną, aby w krótkim czasie pojawił się dodatni odczyn aglutynacji. Rozpuszczalne specyficzne antygeny polisacharydowe gromadzą się w płynie mózgowo rdzeniowym, surowicy lub moczu w następstwie zakażenia bakteriami *H. influenzae* typu b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* grup A, B, C, Y lub W135 oraz *Escherichia coli* K1; gromadzą się również w płynie mózgowo rdzeniowym lub surowicy w wyniku zakażenia bakteriami *Streptococcus* grupy B. Wykrycie tych antygenów umożliwiającą zestaw **BD Directigen Meningitis Combo Test Kit** lub **Meningitis Individual Kits** (patrz rozdział „Dostępność”).

ODCZYNNIKI

BD Directigen Meningitis Individual Tests:

***Haemophilus influenzae* typu b:**

Odczynnik 1	(1,0 mL)	Zawiesina cząstek lateksowych pokrytych poliklonalnymi przeciwciałami królika anty- <i>H. influenzae</i> typu b,
Odczynnik A	(0,5 mL)	Kontrolny odczynnik lateksowy, zawiesina cząstek lateksowych pokrytych immunoglobulinami królika; każdy zawiera 0,2% azydku sodu (środek konserwujący).
Kontrola +	(1,5 mL)	Poliwalentna kontrola antygenowa dodatnia, antygeny <i>Streptococcus</i> grupy B, <i>N. meningitidis</i> grup A, C, Y i W135, <i>H. influenzae</i> typu b i <i>S. pneumoniae</i> ,
Kontrola -	(1,5 mL)	Kontrola antygenowa ujemna, roztwór soli buforowany glicyną, każdy zawiera 0,2% azydku sodu (środek konserwujący).

***Streptococcus pneumoniae*:**

Odczynnik 1	(1,0 mL)	Zawiesina cząstek lateksowych pokrytych poliklonalnymi przeciwciałami królika anti- <i>S. pneumoniae</i> ,
Odczynnik A	(0,5 mL)	Kontrolny odczynnik lateksowy, zawiesina cząstek lateksowych pokrytych immunoglobulinami królika, każdy zawiera 0,2% azydku sodu (środek konserwujący).
Kontrola +	(1,5 mL)	Poliwalentna kontrola antygenowa dodatnia, antygeny <i>N. meningitidis</i> grupy A, C, Y i W135, <i>H. influenzae</i> typu b i <i>S. pneumoniae</i> ,
Kontrola -	(1,5 mL)	Kontrola antygenowa ujemna, roztwór soli buforowany glicyną, każdy zawiera 0,2% azydku sodu (środek konserwujący).

***Streptococcus* grupy B:**

Odczynnik 1	(1,0 mL)	Zawiesina cząstek lateksowych pokrytych poliklonalnymi przeciwciałami królika anti- <i>Streptococcus</i> grupy B,
Odczynnik A	(0,5 mL)	Kontrolny odczynnik lateksowy, zawiesina cząstek lateksowych pokrytych immunoglobulinami królika, każdy zawiera 0,2% azydku sodu (środek konserwujący).
Kontrola +	(1,5 mL)	Poliwalentna kontrola antygenowa dodatnia, antygeny <i>Streptococcus</i> grupy B, <i>N. meningitidis</i> grup A, C, Y i W135, <i>H. influenzae</i> typu b i <i>S. pneumoniae</i> ,
Kontrola -	(1,5 mL)	Kontrola antygenowa ujemna, roztwór soli buforowany glicyną, każdy zawiera 0,2% azydku sodu (środek konserwujący).

***Neisseria meningitidis* grupy B/E. coli K1:**

Odczynnik 1	(1,0 mL)	Zawiesina cząstek lateksowych pokrytych monoklonalnymi przeciwciałami mysimi anti- <i>N. meningitidis</i> grupy B/E. coli K1,
Odczynnik A	(0,5 mL)	Kontrolny odczynnik lateksowy, zawiesina cząstek lateksowych pokrytych immunoglobulinami mysimi, każdy zawiera 0,2% azydku sodu (środek konserwujący).
Kontrola +	(1,5 mL)	Kontrola dodatnia z antygenem poliwalentnym, antygeny <i>N. meningitidis</i> grup A, B, C, Y i W135, <i>H. influenzae</i> typu b, <i>Streptococcus</i> grupy B i <i>S. pneumoniae</i> ,
Kontrola -	(1,5 mL)	Kontrola antygenowa ujemna, roztwór soli buforowany glicyną, każdy zawiera 0,2% azydku sodu (środek konserwujący).

Ostrzeżenia i środki ostrożności:

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

W próbkach mogą być obecne drobnoustroje patogenne, takie jak wirusy zapalenia wątroby i wirus HIV. Podczas pracy z wszelkimi materiałami skażonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy przestrzegać „Standardowych środków ostrożności”¹⁸⁻²¹ oraz wytycznych obowiązujących w danej placówce. Pojemniki na próbki oraz inne skażone wyposażenie i materiały należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.

Ostrzeżenie



H302 Działa szkodliwie po połknięciu. **P264** Dokładnie umyć po użyciu. **P301+P312** W PRZYPADKU POŁKNIECIA: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCI lub z lekarzem. **P501** Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z lokalnymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi przepisami.

Odczynniki: Nie używać po upływie daty ważności. Po wyjęciu z chłodziarki przed użyciem pozostawić do osiągnięcia temperatury pokojowej (15 – 30°C).

Aby umożliwić właściwe wkrapianie odczynnika, buteleczkę z dozownikiem należy trzymać pionowo, a odczynnik wkraplać pojedynczymi, swobodnie spadającymi kroplami.

Kontrola: Nie używać zestawu, jeśli Kontrola + i Kontrola - nie dają właściwych wyników.

Karty testowe: Aby reakcje miały prawidłowy przebieg, karty powinny być płaskie. W razie potrzeby należy wyprostować kartę, odginając ją w kierunku przeciwnym do zagięcia. Należy zachować ostrożność, aby nie pozostawić odcisków palców na obszarach testowania, gdyż może to skutkować powstawaniem tłustych śladów i powodować nieprawidłowe wyniki testu. Każdej karcie należy używać tylko raz, a po użyciu – wyrzucić. Przechowywać karty w oryginalnym opakowaniu w suchym miejscu, w temperaturze pokojowej. Rozprowadzając odczynniki w granicach obszarów testowych, należy unikać zadrapania powierzchni karty plastikową szpatułką. Jeśli próbka nie rozprowadza się aż do zewnętrznego obwodu obszaru testowego, należy użyć innego obszaru testującego na karcie.

Płytki testowe (szklane): Korzystając z płytki szklanej, należy ją zdezynfekować po każdym użyciu i umyć przed ponownym użyciem. Zaleca się używanie fenolowego środka dezynfekującego. Przed ponownym użyciem upewnić się, że wszystkie ślady detergentu i/lub środka dezynfekującego zostały dokładnie spłukane.

Wirowanie: Zalecana prędkość wirowania mechanicznego wynosi 100 ± 2 obr./min, jednak prędkość 95 – 110 obr./min nie wpływa znacząco na otrzymywane wyniki. Wirowka powinna zakreślać w płaszczyźnie poziomej krąg o średnicy około 2 cm. Podczas wirowania należy używać zwilżonej pokrywy nawilżającej, aby zapobiec wysychaniu badanych próbek.

Przechowywanie odczynników: Po odebraniu opakowania wyjąć pudło z odczynnikami i przechowywać w lodówce, w temperaturze 2 – 8°C. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Nieużywane odczynniki powinny być przechowywane w zamkniętych butelkach, w chłodziarce. Należy uważać, by nie pomylić zakrętek oznaczonych kolorami.

POBIERANIE PRÓBEK I OBCHODZENIE SIĘ Z NIMI

Szczegółowe informacje na temat pobierania próbek i postępowania z nimi można znaleźć w stosownej literaturze. Pobrane próbki należy poddać badaniu tak szybko, jak to możliwe. Jeśli jednak nie można ich zbadać natychmiast, powinno się je przechowywać w temperaturze 2 – 8°C (nie dłużej niż 48 h) lub w temperaturze -20°C.

Przed zbadaniem lub przechowywaniem oddzielić surowicę od krwi pełnej.

WSTĘPNA OBRÓBKA PRÓBK

Najskuteczniejszym sposobem wstępnej obróbki próbki jest zastosowanie probówek z powlekanego szkła (borokrzemowego) w łaźni wodnej o temperaturze 100°C (woda wrząca). Chociaż dopuszcza się stosowanie szklanych probówek ogrzewanych w cieplarze, można stwierdzić znaczne niedokładności pod względem właściwego ogrzania próbek w wyniku różnic rozmiarów probówek i objętości próbek.

PROCEDURY

Miejsce przeprowadzania testu, odczynniki, badane próbki i składniki testu powinny podczas procedury mieć temperaturę pokojową (15 – 30°C).

Materiały dostarczone: Wszystkie materiały wymienione w rozdziale „Odczynniki”, stacja robocza oraz akcesoria.

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Karty testu kombinowanego w kierunku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych **BD Directigen**, bufor **BD Directigen**, Rotator, 100 ± 2 obr./min, } (patrz „Dostępność”)
pokrywa nawilżająca, mikropipeta (objętość podawania 50 µL), końcówki do pipety

Konieczne jest również wyposażenie i sprzęt laboratoryjny, używany do przygotowywania, przechowywania i obróbki próbek płynu mózgowo rdzeniowego, surowicy i moczu.

Przygotowywanie próbki (płyn mózgowo rdzeniowy):

1. Badając płyn mózgowo-rdzeniowy w kierunku *H. influenzae* typu b, *S. pneumoniae* i *Streptococcus* grupy B, należy ogrzewać próbki przez 3 min w temperaturze 100°C (np. w łaźni wodnej lub cieplarze) i przed użyciem odstawić do schłodzenia w temperaturze pokojowej.

W celu uzyskania optymalnej czułości testu próby w kierunku obecności *N. meningitidis* grupy B/E. coli K1 badanie należy przeprowadzać na nieogrzanych próbkach (patrz „Ograniczenia procedury”).

2. próbki płynu mózgowo rdzeniowego z widocznym zmętnieniem należy przed zbadaniem odwirowywać przez 10 min przy przyspieszeniu 1400 x g. Jako badaną próbkę jest wykorzystywany płyn z warstwy powierzchniowej po wirowaniu.

3. Próbkę należy badać (odpowiednio ogrzaną lub nieogrzewaną) zgodnie z opisem w rozdziale „Procedura testowa”.

Przygotowywanie próbki (surowica):

1. Rozcieńczyć próbki surowicy o objętości co najmniej 0,4 mL buforem **BD Directigen Specimen Buffer** w stosunku 1:1 i wymieszać.

2. Ogrzewać próbki przez 5 min w temperaturze 100°C (na przykład w łaźni wodnej lub cieplarze), a następnie przed użyciem pozostawić do ostygnięcia do temperatury pokojowej.

3. Za pomocą drewnianej pałeczki-aplikatora rozbić utworzony białkowy „skrzep” i energicznie wymieszać w mieszarce (przez około 5 s).

4. Wirować z przyspieszeniem co najmniej 1400 x g przez 15 min.

5. Testować płyn z warstwy powierzchniowej po wirowaniu zgodnie z opisem zawartym w rozdziale „Procedura testowa”.

Przygotowywanie próbki (niezagęszczony mocz):

1. Rozcieńczyć próbki moczu o objętości co najmniej 0,4 mL buforem **BD Directigen Specimen Buffer** w stosunku 1:1 i wymieszać.

2. Ogrzewać próbki przez 5 min w temperaturze 100°C (na przykład w łaźni wodnej lub cieplarze), a następnie przed użyciem pozostawić do ostygnięcia do temperatury pokojowej.

3. Wirować z przyspieszeniem co najmniej 1400 x g przez 10 min.

4. Testować płyn z warstwy powierzchniowej po wirowaniu zgodnie z opisem zawartym w rozdziale „Procedura testowa”.

Przygotowywanie próbki (zagęszczony mocz):

1. Mętne lub zawierające cząstki stałe próbki moczu powinno się przed zagęszczeniem odwirowywać z przyspieszeniem 1400 x g przez 10 min.

2. próbki moczu można zagęszczać 25 krotnie za pomocą urządzenia zagęszczającego Minicon B-15 (Amicon Corporation, Danvers, Massachusetts, USA).

3. Rozcieńczyć próbki koncentratu moczu o objętości co najmniej 200 µL buforem **BD Directigen Specimen Buffer** w stosunku 1:1 i wymieszać.

4. Ogrzewać próbki przez 5 min w temperaturze 100°C (na przykład w łaźni wodnej lub cieplarze), a następnie przed użyciem pozostawić do ostygnięcia do temperatury pokojowej.

5. Wirować z przyspieszeniem co najmniej 1400 x g przez 10 min.

6. Testować płyn z warstwy powierzchniowej po wirowaniu zgodnie z opisem zawartym w rozdziale „Procedura testowa”.

Przygotowanie do potwierdzenia gatunku kolonii z posiewu:

1. Na podłożu agarowym odnaleźć podejrzane kolonie bakteryjne z posiewu 18 – 24 h, spełniające kryteria oceny morfologii i wyników barwienia metodą Grama jako drobnoustroje odpowiednie do badania za pomocą odczynników lateksowych testu **BD Directigen Meningitis**. **Uwaga:** Przed badaniem należy przeprowadzić barwienie metodą Grama w celu upewnienia się, że dane drobnoustroje są odpowiednie do badania za pomocą odczynników lateksowych **BD Directigen Meningitis**.

2. Pobrać pipetą 0,5 mL (około 10 kropli) odczynnika Kontroli - do małej probówki szklanej (10 x 75 mm lub o odpowiadających jej parametrach).

3. Pobrać jałową eżę kilka (2 – 3) oddzielnych kolonii o podobnej morfologii z płytki oryginalnej lub z hodowli pochodnej i sporządzić we wspomnianej probówce zawiesinę zgodnie ze standardem mętności McFarlanda #1. **Uwaga:** Zbyt gęsty posiew stanie się źródłem nadmiernie gęstej zawiesiny, która może spowodować mylne wyniki.

- Ogrzewać zawieszinę przez 3 min w temperaturze 100°C (na przykład w łaźni wodnej w temperaturze wrzenia lub cieplance), a następnie przed użyciem pozostawić do ostygnięcia do temperatury pokojowej.
- Wirować z przyspieszeniem co najmniej 1400 x g przez 10 min.
- Testować płyn z warstwy powierzchniowej po wirowaniu zgodnie z opisem zawartym w rozdziale „Procedura testowa”. **Uwaga:** Jeśli stwierdza się nietypowe wzorce aglutynacji, należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Ograniczenia procedury”.

Kontrola jakości przez użytkownika:

Podczas badania każdej serii próbek należy uwzględnić badanie za pomocą **Kontroli +** i **Kontroli -**, zgodnie z opisem w punkcie 1 rozdziału „Procedura testowa”.

Należy postępować zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, krajowych i (lub) federalnych, wymogami akredytacji i rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium. Zaleca się, aby użytkownik stosował się do odpowiednich zaleceń CLSI i przepisów CLIA, dotyczących sposobów kontroli jakości.

Procedura testowa (badanie płynu mózgowo rdzeniowego, zagęszczonego moczu oraz potwierdzanie gatunku kolonii bakteryjnej):

Wyjąć przechowywane odczynniki z chłodziarki i wsunąć tacę odczynników do szczeliny stacji roboczej.

Zapoznać się z diagramem przedstawiającym wykonanie procedury.

Używać wyłącznie kart testowych lub płytek szklanych testu kombinowanego w kierunku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych do testowania próbek. W przypadku stosowania kart testu kombinowanego w kierunku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych dla więcej niż jednej próbki, należy odpowiednio oznakować okrągłe pola. Przed użyciem szklanej płytki oczyścić ją za pomocą tkaniny niepozostawiającej włókien.

- Wkroplić jedną kroplę **kontroli +** do okrągłego pola odpowiadającego odczynnikowi 1 rzędu „+”. Umieścić jedną kroplę **kontroli -** w okrągłym polu odpowiadającym odczynnikowi 1 rzędu „-”.
- Wkroplić za pomocą mikropipety po 50 µL badanej próbki do okrągłego pola odpowiadającego odczynnikowi 1 rzędu „S” i okrągłego pola A.
- Trzymając buteleczkę z dozownikiem za korek, wstrząsnąć energicznie (nie odwracając) w celu dokładnego wymieszania każdego odczynnika. Przed odfekowaniem buteleczki postukać delikatnie jej nasadą o blat laboratoryjny, aby upewnić się, że w końcówce buteleczki nie pozostała kropla odczynnika lateksowego.
- Wkroplić jedną kroplę **odczynnika A** (kontrolna zawiesina lateksowa) do okrągłego pola A.
- Wkroplić po jednej kropli **odczynnika 1** do okrągłych pól „+”, „-” i „S” w kolumnie odpowiadającej odczynnikowi 1.
- Wymieszaj próbki i odczynniki lateksowe w każdym okrągłym polu za pomocą plastikowego mieszałki, używając naprzemiennie jednej końcówki, a następnie w sąsiednim polu - końcówki przeciwnej. Wyrzucić mieszałki.
- Włożyć kartę lub szklaną płytkę do mechanicznej wirówki i obracać z prędkością wynoszącą 100 ± 2 obr./min przez 10 min. Aby zapobiec parowaniu płynu, należy użyć zwilżonej pokrywki nawilżającej.
- Bepośrednio po upływie 10 min odczytać wyniki testu, oceniając je makroskopowo w świetle silnej żarówki.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

W pierwszej kolejności odnotować wyniki testu z **Kontroli +** i **Kontroli -**.

Test z użyciem **Kontroli +** w ciągu 10 min powinien wykazać aglutynację z odczynnikiem 1. **Kontrola -** nie powinna wykazywać aglutynacji.

Obecność aglutynacji w kolistym polu zawierającym **odczynnik A** oznacza reakcję niemożliwą do interpretacji.

Odnotować wyniki badania pacjenta:

Wynik testu dodatni - powinien wykazać aglutynację z **odczynnikiem 1**. Każdy stopień aglutynacji z **odczynnikiem 1** wskazuje na obecność odpowiedniego antygenu. *Obecność aglutynacji odczynnika A oznacza reakcję niemożliwą do interpretacji.*

Wynik testu ujemny - powinien wykazać brak aglutynacji z **odczynnikiem 1** lub **odczynnikiem A**.

OGRA NICZENIA PROCEDURY

Omawiane testy aglutynacyjne nie zostały opracowane jako substytut badania posiewu. Potwierdzenie rozpoznania bakteryjnego zapalenia opon mózgowych jest możliwe wyłącznie w drodze odpowiednich procedur posiewu, co powinno być wykonywane rutynowo.

Próbki zawierające bardzo niskie stężenia antygenu, na przykład we wczesnym etapie infekcji, mogą dawać fałszywe wyniki ujemne. Ponadto próbki z nadzwyczaj wysokimi stężeniami antygenu mogą ujawniać efekt prozyny (hamowania reakcji wskutek nadmiaru antygenu), dając nieprawidłowe wyniki ujemne. Chociaż zjawisko prozyny nie było dotąd przedmiotem obszernych badań, wiadomo że obserwowano je w próbkach, do których wprowadzano antygen o wysokim stężeniu, nie zaś w próbkach pochodzenia klinicznego.

Omawiany odczyn służy do jakościowego wykrywania antygenów *H. influenzae* typu b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* grupy B oraz *E. coli* K1 w płynie mózgowo rdzeniowym, surowicy lub moczu, a także do wykrywania antygenów *Streptococcus* grupy B w płynie mózgowo rdzeniowym i surowicy. Ponadto zestaw testowy może być wykorzystywany do badania kolonii podejrzanych o obecność bakterii: *H. influenzae* typu b, *Streptococcus* grupy B, *S. pneumoniae* i *N. meningitidis* grupy B. Nie oceniano skuteczności działania testu w badaniu innych typów próbek.

Testy **BD Directigen Meningitis Individual Tests** nie mogą być wykorzystywane łącznie z podłożami do posiewów wzbogażonymi krwią.

Dodatni lub ujemny wynik testu na obecność paciorkowców grupy B wskazuje tylko na obecność lub nieobecność antygenu paciorkowcowego grupy B, nie zaś na obecność lub nieobecność schorzenia wywołanego przez paciorkowce grupy B.

Niniejszego produktu nie należy używać jako substytutu posiewu bakteryjnego w rozpoznawaniu posocznicy i/lub zapalenia opon, wywołanych przez paciorkowce grupy B.

Wynik dodatni lub ujemny jest orientacyjnym testem na obecność antygenu paciorkowcowego grupy B. Wynik ten musi być potwierdzony badaniem posiewu.

Jedynymi materiałami pochodzenia *niemowlęcego* polecanyymi do bezpośredniego wykrywania jakościowego antygenu paciorkowcowego grupy B są surowica i płyn mózgowo rdzeniowy. Obecnie nie można polecać badania próbek moczu niemowląt w celu bezpośredniego wykrywania jakościowego antygenu paciorkowcowego grupy B. Aktualnie brak jest dostatecznych danych potwierdzających skuteczność użycia niniejszych testów w badaniu moczu jako rzetelnego czynnika predykcyjnego występowania schorzeń powodowanych przez paciorkowce grupy B.

Szczepki dwoinek zapalenia płuc oraz *Haemophilus influenzae* typu b nieposiadające antygenu otoczkowego mogą być niewykryte za pomocą technik immunologicznych.

Znany jest fakt występowania krzyżowej reakcji odczynnika z przeciwciałami przeciwko *H. influenzae* w obecności *Escherichia coli* K100. Występowanie pozostałych reakcji krzyżowych, wyników niemożliwych do interpretacji oraz fałszywych wyników dodatnich można zredukować lub wyeliminować przez odpowiednie przygotowywanie próbek (patrz rozdział: „Wstępna obróbka próbek” oraz „Procedury – Przygotowywanie próbek”).

Badania prowadzone z użyciem próbek płynu mózgowo rdzeniowego zaszczepionych antygenem *N. meningitidis* grupy B oraz *E. coli* K1 sugerują, że ograniczenie próbki może skutkować pewnym zmniejszeniem poziomu dokładności testu w porównaniu z próbkami nieogrzewanymi.

Próbki surowicy i moczu niepoddawane obróbce, badane z użyciem odczynników lateksowych, mogą dawać wyniki niemożliwe do interpretacji. Patrz rozdział „Procedury – Przygotowywanie próbek”. Próbki płynu mózgowo rdzeniowego lub poddane obróbce próbki moczu z widocznym jakimkolwiek zmętnieniem należy po ogrzaniu lub przed badaniem odwirowywać przez 10 min z przyspieszeniem wynoszącym 1400 x g. Jako badaną próbkę jest wykorzystywany płyn z warstwy powierzchniowej po wirowaniu.

Próbki moczu, które mimo obróbki zgodnej z opisem przedstawionym w rozdziale „Procedury – Przygotowywanie próbek” dają wynik niemożliwy do interpretacji lub domniemany fałszywy wynik dodatni, można przefiltrować przez filtr MILLIPORE MillexHA 0,45 µm (#SLHA-0250S), a następnie zbadać ponownie przy użyciu lateksowych odczynników testowych i odpowiadających im lateksowych odczynników kontrolnych.

Próbki kolonii bakteryjnych, badane w celu potwierdzenia ich gatunku, wykazujące reakcje aglutynacji niemożliwe do interpretacji lub nietypowe, mogą wymagać rozcieńczenia płynu z warstwy powierzchniowej po wirowaniu odczynnikiem kontroli - w stosunku 1:10. Należy dołożyć starań, by uniknąć tworzenia się zawiesin bakterii o mętności wyższej niż #1 standardu McFarlanda.

Lateksowe testy aglutynacyjne próbek moczu odznaczają się potencjalną użytecznością w dostarczaniu dowodów obecności patogenu u niemowląt, u których stwierdza się gorączkę bez żadnych objawów lokalizujących miejsce infekcji.²² Jednakże u niemowląt po podaniu szczepionki przeciwko *Haemophilus influenzae* typu b (Hib) wydalanie antygenu z moczem może utrzymywać się przez 3 – 14 dni, a nawet do 30 dni. Częstość występowania antygenu oraz czas utrzymywania się go zależą od danego pacjenta i rodzaju podanej szczepionki. W przypadku szczepionych niemowląt ustalenie kalendarza szczepień danego pacjenta jest istotne dla poprawnej interpretacji dodatnich wyników obecności antygenu Hib w moczu.²²⁻²⁴

Niektóre szczepki z grupy paciorkowców zieleniących (tj. *S. mitis*, *S. sanguis* II, *S. salivarius*)²⁵ dawały krzyżowe reakcje z lateksowym odczynnikiem **BD Directigen** zawierającym przeciwciała przeciwko *S. pneumoniae*. Różnicowanie obecności *S. pneumoniae* oraz paciorkowców zieleniących może wymagać przeprowadzenia dodatkowych testów.

Przed procedurą potwierdzania gatunku kolonii bakteryjnej należy przeprowadzić barwienie metodą Grama. Niektóre kolonie szczepów bakteryjnych, pochodzące z hodowli na podłożach wzbogaconych krwią, o morfologii podobnej do podejrzewanej kolonii, lecz różniące się wynikami barwienia metodą Grama (tzn. beta hemolizujące, niepatogenne gatunki *Neisseria*), mogą ujawniać nieswoiste odczyn aglutynacji i/lub reakcje fałszywie dodatnie podczas badania z użyciem lateksowego odczynnika z przeciwciałami przeciwko paciorkowcom grupy B.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Haemophilus influenzae typu b, *Neisseria meningitidis* oraz *Streptococcus pneumoniae* są trzema czynnikami przyczyniającymi się do 84% przypadków bakteryjnego zapalenia opon mózgowych.³

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Czułość: W retrospektywnym badaniu klinicznym za pomocą lateksowych odczynników zestawu **BD Directigen Meningitis** oraz immunoelektroforezy przeciwprądowej (CIE) testowano 177 próbek płynu mózgowo rdzeniowego (ogrzewane i nieogrzewane), 31 surowicy i 40 moczu (tabela 1, str. 8). 248 badanych próbek pochodziło od pacjentów, u których na podstawie posiewów, immunoelektroforezy przeciwprądowej potwierdzono obecność zakażenia bakteriami: *Haemophilus influenzae* typu b, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* grupy B lub paciorkowcami grupy B.

Czułość testu w odniesieniu do *E. coli* K1 określano, zaszczepiając próbki płynów ustrojowych komórkami bakteryjnymi *E. coli* K1 i porównując wyniki z czułością dostępnego w sprzedaży lateksowego odczynnika aglutynacyjnego. Odczynnik lateksowy **BD Directigen Neisseria meningitidis** grupy B (odczynnik 1) był w stanie wykryć obecność *E. coli* K1 w płynie mózgowo rdzeniowym (4/4), surowicy (4/4), moczu (3/4) i zagęszczonym moczu (4/4). Końcowe rezultaty badania czułości były jednakowe lub wyższe w porównaniu z podobnym odczynnikiem lateksowym, dostępnym w sprzedaży.¹⁵

Lateksowe odczynniki zestawu **BD Directigen Meningitis** w kierunku zapalenia opon okazały się jednakowo lub bardziej czułe w porównaniu z immunoelektroforezą przeciwprądową w wykrywaniu antygenu w płynie mózgowo rdzeniowym, surowicy i moczu.

Każdy odczynnik lateksowy **BD Directigen** porównywano również z immunoelektroforezą przeciwprądową pod kątem zdolności wykrywania częściowo oczyszczzonego antygenu, wprowadzonego do próbki płynu mózgowo rdzeniowego, surowicy i moczu. Podczas immunoelektroforezy przeciwprądowej używano dostępnej w sprzedaży surowicy odpornościowej swoistej dla każdego antygenu. Odczynniki lateksowe **BD Directigen** wykazały wyższą czułość niż immunoelektroforeza przeciwprądowa.¹⁵

Ponadto wykonano badanie retrospektywne na płynie mózgowo-rdzeniowym (ogrzewanym lub nieogrzewanym) oraz próbkach moczu u chorych z zakażeniem paciorkowcami grupy B potwierdzonym na podstawie hodowli. Na podstawie testu **BD Directigen** w kierunku zapalenia opon wykryto antygen w siedmiu spośród ośmiu próbek płynu mózgowo-rdzeniowego, w 22 z 25 niezagęszczonych próbek moczu oraz 10 z 10 25-krotnie zagęszczonych próbek moczu.

Swoistość: Swoistość odczynników **BD Directigen Meningitis** wykazano na podstawie prospektywnego badania próbek płynu mózgowo-rdzeniowego, surowicy oraz próbek moczu w badaniach klinicznych prowadzonych w 5 ośrodkach badawczych (tabela 2, str. 9). Dane wskazują na swoistość mieszczącą się w przedziale 97 – 100%, w zależności od rodzaju odczynnika lateksowego i badanej próbki.

Potwierdzenie gatunku kolonii bakteryjnej: Odczynniki lateksowe badano z wykorzystaniem zawiesin sporządzonych na bazie wyizolowanych kolonii, spełniających kryteria morfologiczne dla danych mikroorganizmów. Charakterystykę działania zamieszczono w Tabeli 3 (str. 10).

DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
252260	BD Directigen <i>H. influenzae</i> type b Test
251960	BD Directigen <i>S. pneumoniae</i> Test
255460	BD Directigen Group B Strep Test
255560	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> group B i <i>E. coli</i> K1 Test
250160	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Test
252360	BD Directigen Meningitis Combo Test
252480	BD Directigen Meningitis Combo Test Cards, 30 kart
256391	BD Directigen Specimen Buffer Solution
252350	BD Directigen Meningitis Test, Negative Control, 4 x 9 mL
278051	BD Macro-Vue Card Test Rotator

PIŚMIENICTWO

1. Rothrock, S.G., S.M. Green, J. Wren, D. Letai, L. Daniel-Underwood, E. Pillar: Pediatric bacterial meningitis: is prior antibiotic therapy associated with unaltered clinical presentation?, *Annals Emerg. Med.* 21:146–152, 1992.
2. Fasola, E. and P. Ferrieri: Laboratory diagnostic methods for central nervous system infections, *Neuro. Clinics N. Amer.* 3:279–290, 1992.
3. Morbidity and Mortality Weekly Report (CDC), Surveillance summary: bacterial meningitis and meningococemia, United States, 28:277–279, 1978.
4. Finegold, S.M. and Martin, W.J.: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 6th Ed., C.V. Mosby Co., 1982.
5. Baker, C.J.: Summary of the workshop on perinatal infections due to group B *Streptococcus*, NIH News, *J. Infect. Dis.*, 136:137–152, 1977.
6. Mulder, C.J.J., Van Alphen, L. and Zanen, H.C.: Neonatal meningitis caused by *Escherichia coli* in the Netherlands., *J.-Infect. Dis.*, 150:935, 1984
7. Sarff, L.D., McCracken, G.H., Jr., Schiffer, M.S., Glocle, M. P., Robbins, J.B. and Orskov, F.: Epidemiology of *Escherichia coli* K1 in healthy and diseased newborns., *Lancet*, 1:1099–1104, 1975.
8. Blaunstein, H., Tucker, E.B. and Gibson, B.C.: Identification and significance of *Streptococcus agalactiae*, *Am. J. Clin. Path.*, 51:207–213, 1969.
9. Kasper, D.L., Winkelhake, J.L., Zollinger, W.D., Brandt, B.L. and Artenstein, M.S.: Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of *Escherichia coli* 07:K1(L): NM and group B *Neisseria meningitidis*, *J. Immunol.*, 110:262–268, 1973.
10. Lively, M.R., A.S. Gilbert and C. Moreno: Sialic acid polysaccharide antigens of *Neisseria meningitidis* and *Escherichia coli*: esterification between adjacent residues., *Carbohydr. Res.*, 94:193–203, 1981.
11. Edwards, E.A.: Immunologic investigations of meningococcal disease, group-specific *Neisseria meningitidis* antigens present in the serum of patients with fulminant meningococemia., *J. Immunol.* 106:314–317, 1971.
12. Whittle, H. C., Egler, J.J., Tugwell, P. and Greenwood, B.M.: Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. *Lancet*, 2:619–621, 1974.
13. Ingram, D.L., Anderson, P. and Smith, D.H.: Countercurrent immunoelectrophoresis in the diagnosis of disease caused by *Haemophilus influenzae* type b., *J. Ped.*, 81:1156–1159, 1972.
14. Newman, R.B., Stevens, R.W. and Gaafar, H.H.: Latex agglutination test for the diagnosis of *Haemophilus influenzae* meningitis., *J. Lab. Clin. Med.*, 76:107–113, 1970.
15. Data on file at BD Diagnostic Systems.
16. Tilton, R.C., Dias, F. and Ryan, R.W.: Comparative evaluation of three commercial products and counterimmunoelectrophoresis for the detection of antigens in cerebrospinal fluid, *J. Clin. Microbiol.*, 20:231–234, 1984.
17. Rench, M.A., Metzger, T. G. and Baker, C. J.: Detection of group B. streptococcal antigen in body fluids by a latex-coupled monoclonal antibody assay, *J. Clin. Microbiol.*, 20:852–854, 1984.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A5. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, PA.
19. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53–80.
20. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC) 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
21. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021-0045.

22. Jones, R.G., Bass, J.W., Weisse, M.E., and Vincent, J.M. Antigenuria after immunization with *Haemophilus influenzae* oligosaccharide CRM197 conjugate (HbOC) vaccine. *Pediatr. Inf. Dis. J.* 1991; 10:557–9.
23. Goepp, J.G., Hohenboken, M., Almeida-Hill, J., and Santocham, M. Persistent urinary antigen excretion to infants vaccinated with *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide conjugated with outer membrane protein from *Neisseria meningitidis*. *Pediatr. Inf. Dis. J.* 1992; 11:2–5.
24. Rothstein, E.P., Madore, D.V., et al. Comparison of antigenuria after immunization with three *Haemophilus influenzae* type-b conjugate vaccines. *Pediatr. Inf. Dis. J.* 1991; 10:331–14.
25. Holmberg, H., Danielsson D., Hardie, J., Krook, A., Whiley, R.: Cross-reactions between α -streptococci and omnisera, a polyvalent pneumococcal serum, demonstrated by direct immunofluorescence, immunoelectrophoresis, and latex agglutination, *J. Clin Microbiol.*, 21:745–748, 1985.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę www.bd.com/ds.

Tabela 1

Porównanie testu BD Directigen oraz immunoelektroforezy przeciwprądowej (CIE) na podstawie badania
dostarczonych próbek

Próbka	Obecny antygen	Metody	Liczba wyników dodatnich	Liczba wyników ujemnych
Płyn mózgowo-rdzeniowy	<i>H. influenzae</i> typu b	BD Directigen CIE	83 66	14 31
	<i>S. pneumoniae</i>	BD Directigen CIE	36 33	9 12
	<i>Streptococcus</i> grupy B	BD Directigen CIE	4 2	4 6
	<i>N. meningitidis</i> grupy B	BD Directigen CIE	11 7	16 20
Surowica	<i>H. influenzae</i> typu b	BD Directigen CIE	7 5	2 4
	<i>S. pneumoniae</i>	BD Directigen CIE	17 17	5 5
Mocz	<i>H. influenzae</i> typu b	BD Directigen CIE	12 2	4 14
	<i>S. pneumoniae</i>	BD Directigen CIE	7 1	12 18
	<i>Streptococcus</i> grupy B	BD Directigen CIE	3 2	2 3

Tabela 2

Badanie próbek pacjentów niezakażonych *H. influenzae* typu b, *S. pneumoniae*,
Streptococcus grupy B lub *N. meningitidis* grupy B

Próbka	Odczynnik lateksowy	Liczba badanych szczepów	Liczba wyników ujemnych	Swoistość %
Płyn mózgowo-rdzeniowy	<i>H. influenzae</i> typu b	146	146	100
	<i>S. pneumoniae</i>	146	146	100
	<i>Streptococcus</i> grupy B	37	37	100
	<i>N. meningitidis</i> grupy B / <i>E. coli</i> K1	148	148	100
Surowica	<i>H. influenzae</i> typu b	124	124	100
	<i>S. pneumoniae</i>	125	125	100
	<i>Streptococcus</i> grupy B	30	30	100
	<i>N. meningitidis</i> grupy B / <i>E. coli</i> K1	126	126	100
Mocz	<i>H. influenzae</i> typu b	120	119	99
	<i>S. pneumoniae</i>	120	119	99
	<i>Streptococcus</i> grupy B	40	40	100
	<i>N. meningitidis</i> grupy B / <i>E. coli</i> K1	120	120	100
Mocz zagęszczony 25 x	<i>H. influenzae</i> typu b	30	30	100
	<i>S. pneumoniae</i>	30	29	97
	<i>Streptococcus</i> grupy B	11	11	100
	<i>N. meningitidis</i> grupy B / <i>E. coli</i> K1	30	30	100

Tabela 3

Charakterystyka skuteczności potwierdzania gatunku kolonii

Test BD Directigen Meningitis w kierunku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych w porównaniu z identyfikacją biochemiczną

Podejrzewany drobnoustroj	Liczba badanych szczepów	Względna czułość (95% przedział ufności)	Względna swoistość (95% przedział ufności)	Odsetek nieoznaczalnych pierwszych wyników (%)
<i>H. influenzae</i> typu b	112	100% (92 – 100)	98,5% (92 – 100) ²	3,6%
<i>S. pneumoniae</i>	124	93% (84 – 98)	79,0% (66 – 88) ¹	0%
<i>Streptococcus</i> grupy B	129	100% (95 – 100)	90,5% (80 – 96) ¹	0%
<i>N. meningitidis</i> grupy B	106	85% (55 – 98)	100% (96 – 100) ²	4,7%

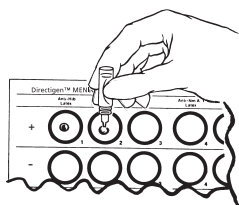
¹ Patrz rozdział „Ograniczenia procedury”.

² Wyniki po powtórzeniu testu z rozcieńczeniem w stosunku 1:10.

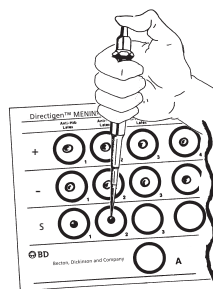
Diagram wykonania procedury

Wykonywanie testu

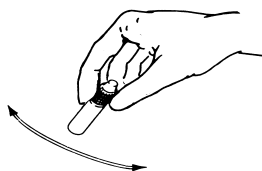
1



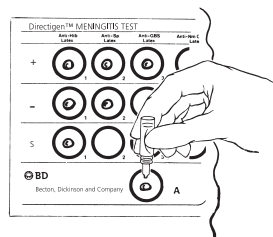
2



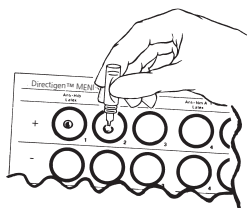
3



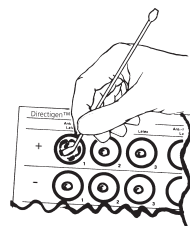
4



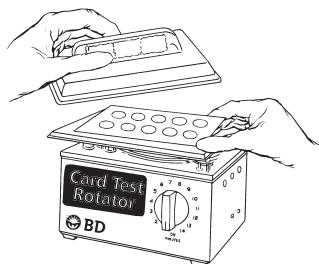
5



6



7



Directigen™ MENINGITIS TEST			
	Anti-Hib Latex	Anti-Sp Latex	Anti-GBS Latex
+			
-			
S			
	1	2	3



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant /
 / Proizvodač / Gyártó / Fabbicante / Atқарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător /
 Производител / Výrobca / Proizvodač / Tilverkare / Üretici / Виробник



Use by / Използвайте до / Spottebujtje do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne /
 / Date de péremption / Upotřebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki /
 / Izletot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до /
 Použít do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до /
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
 ЖОЖОЖ-АА-КК / ЖОЖОЖ-АА / (АА = айдың соңы)
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = mėneša beigas)
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluttan av måneden)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
 PPPP-MM-DD / PPPP-MM (MM = кінець місяця)

REF

Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo /
 Kataloguinumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог нөмірі / Katalogo
 numeris / Kataloga numurs / Catalogue number / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу /
 Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом

EC REF

Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност /
 Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber /
 Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα /
 / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Representant autorisé
 pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai
 Közöségen / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл /
 / Igalotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de
 Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej
 / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană /
 Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve /
 Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu
 Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС

IVD

In vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro
 diagnostiku *in vitro* / *In vitro* diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / *In vitro*
 διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* / *In vitro* diagnostika meditsiiniaparatuur /
 Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Medicinska pomagala za *In vitro* Dijagnostiku / *In vitro* diagnosztikai orvosi
 eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica *in vitro* / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика
 аспабы / *In vitro* diagnostikos prietaisais / Medicīnas ierīces, ko lieto *in vitro* diagnostikā / Medisch hulpmiddel
 voor in-vitro diagnostiek / *In vitro* diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki *in vitro* /
 Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* / Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro* / Медицинский прибор
 для диагностики *in vitro* / Medicinska pomôcka na diagnostiku *in vitro* / Medicinski uređaj za *in vitro* dijagnostiku /
 Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики
in vitro



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning /
 Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi piirang / Limites de
 température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / Laikymo
 temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperatuurlimiet / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury /
 Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenje teploty / Ograničenje
 temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури

LOT

Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Кодікός партії
 (партії) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotti) / Топтам
 коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (serie) / Código do lote /
 Cod de serie (Lot) / Код партії (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії



Contains sufficient for <n> tests / Съдържащието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenuo suficiente per <n> test / <n> تستری үшін жеткілікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor <n> testen / Innholder tilstrækkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli miktarda içerir / Вистачить для аналізів: <n>



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



Do not reuse / Не используйте повторно / Nepoužívejte opakovaně / Ikke til genbrug / Nicht wiederverwenden / Μην επαναχρησιμοποιείτε / No reutilizar / Mitte kasutada korduvalt / Ne pas réutiliser / Ne koristiti ponovo / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Пайдалану не повторювати / Tik vienkartiniam naudojimui / Nelietot atkārtoti / Niet opnieuw gebruiken / Kun til engangsbrug / Nie stosować powtórnie / Não reutilize / Nu refolositi / Не использовать повторно / Nepoužívejte opakovane / Ne upotrebljavajte ponovo / Får ej återanvändas / Tekrar kullanmayın / Не використовувати повторно



Serial number / Сериен номер / Sériové číslo / Seriennummer / Seriennummer / Σειριακός αριθμός / N° de serie / Seerianumber / Numéro de série / Serijski broj / Sorozatszám / Numero di serie / Топтамалык нөмірі / Serijos numeris / Sérijas numurs / Serie nummer / Umeri seryjny / Número de série / Număr de serie / Сериальный номер / Seri numarasi / Номер серії



For IVD Performance evaluation only / Само за оценка качества на работа на работа на IVD / Pouze pro vyhodnocení výkonu IVD / Kun til evaluering af IVD ydelse / Nur für IVD-Leistungsbewertungszwecke / Móno για αξιολόγηση απόδοσης IVD / Sólo para la evaluación del rendimiento en diagnóstico in vitro / Ainult IVD seadme hindamises / Réserve à l'évaluation des performances IVD / Samo u znanstvene svrhe za In Vitro Dijagnostiku / Kizárólag in vitro diagnosztikához / Solo per valutazione delle prestazioni IVD / Жасанды жағдайда «пробирка ішінде» диагностикада тек жұмысты бағалау үшін / Tik IVD prietaisju veikimo charakteristikoms tikrinti / Vienigi IVD darbības novērtēšanai / Uitsluitend voor doeltreffendheidsonderzoek / Kun for evaluering av IVD-ytelse / Tylko do oceny wydajności IVD / Uso exclusivo para avaliação de IVD / Numai pentru evaluarea performanței IVD / Только для оценки качества диагностики in vitro / Určenie iba na diagnostiku in vitro / Samo za procenu učinka u in vitro dijagnostici / Endast för utvärdering av diagnostisk användning in vitro / Yalnızca IVD Performans değerlendirilmesi için / Тільки для оцінювання якості діагностики in vitro / For US: "For Investigational Use Only"



Lower limit of temperature / Долен лимит на температура / Dolní hranice teploty / Nedre temperaturgrænse / Temperaturuntergrenze / Κατώτερο όριο θερμοκρασίας / Limite inférieure de température / Alumine temperatuurpiir / Limite inférieure de température / Najnižja dovoljena temperatura / Alsó hőmérsékleti határ / Limite inferiore di temperatura / Temperaturanın төменгі рұқсат шөри / Žemiausia laikymo temperatūra / Temperatūras zemākā robeža / Laagste temperatuurlimiet / Nedre temperaturgrænse / Dolna granica temperatury / Limite minimo de temperatura / Limită minimă de temperatură / Нижний предел температуры / Spodná hranica teploty / Donja granica temperature / Nedre temperaturgräns / Sicaklık alt sınırı / Мінімальна температура



Control / Контрольно / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μάρτυρας / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / Kontrolé / Kontrolle / Controle / Controllo / Контроль / kontroll / Контроль



Positive control / Положительный контроль / Pozitivní kontrola / Positiv kontrol / Positive Kontrolle / Θετικός μάρτυρας / Control positivo / Positiivne kontroll / Contrôle positif / Pozitivna kontrola / Pozitiv kontroll / Controllo positivo / Оң бақылау / Teigiama kontrolė / Pozitívna kontrola / Positieve controle / Kontrola dodatnia / Controllo positivo / Control pozitiv / Положительный контроль / Pozitif kontrol / Позитивный контроль



Negative control / Отрицательный контроль / Negativní kontrola / Negativ kontrol / Negative Kontrolle / Αρνητικός μάρτυρας / Control negativo / Negatiivne kontroll / Contrôle négatif / Negativa kontrola / Negativ kontroll / Controllo negativo / Негативтік бақылау / Neigiama kontrolė / Negatívna kontrola / Negatieve controle / Kontrola ujemna / Controllo negativo / Control negativ / Отрицательный контроль / Negatif kontrol / Негативный контроль



Method of sterilization: ethylene oxide / Метод на стерилизация: этиленов оксид / Způsob sterilizace: ethylenoxid / Steriliseringmetode: ethylenoxid / Sterilisationsmethode: Ethylenoxid / Μέθοδος αποστείρωσης: αιθυλενοξείδιο / Método de esterilización: óxido de etileno / Sterilisieringsmethode: etüleenoksiid / Méthode de stérilisation: oxyde d'éthylène / Metoda sterilizacji: etilen oksid / Sterilizálás módszere: etilén-oxid / Metódo de sterilizzazione: ossido di etilene / Sterilizacija: etilen oksid / Sterilizavimo būdas: etileno oksidas / Sterilizēšanas metode: etilēnoksīds / Gesteriliseerd met behulp van ethyleenoxide / Steriliseringmetode: etylenoksid / Metoda sterylizacji: tenek etylu / Método de esterilização: óxido de etileno / Metodă de sterilizare: oxid de etilenă / Metód sterilizácie: etylénoksid / Metóda sterilizácie: etilen oksid / Steriliseringmetod: etenoxid / Sterilizasyon yöntemi: etilen oksit / Метод стерилизації: этиленоксидом



Method of sterilization: irradiation / Метод на стерилизация: ирадиация / Způsob sterilizace: záření / Steriliseringmetode: bestrålning / Sterilisationsmethode: Bestrahlung / Μέθοδος αποστείρωσης: ακτινοβολία / Método de esterilización: radiación / Sterilisieringsmethode: kiirgus / Méthode de stérilisation: irradiation / Metoda sterilizacji: zračenje / Sterilizálás módszere: besugárzás / Metódo de sterilizzazione: irradiazione / Sterilizacija: zračenje / Sterilizavimo būdas: radiacija / Sterilizēšanas metode: apstarošana / Gesteriliseerd met behulp van bestraling / Steriliseringmetode: bestrålning / Metoda sterylizacji: napromienianie / Método de esterilização: irradiação / Metód sterilizácie: ožiarenie / Metóda sterilizácie: ozračovanie / Steriliseringmetod: strålning / Sterilizasyon yöntemi: iradyasyon / Метод стерилизації: опроміннювання



Biological Risks / Биологични рискове / Biologická rizika / Biologisk fare / Biogefährdung / Βιολογικοί κίνδυνοι / Riesgos biológicos / Bioloogilised riskid / Risques biologiques / Biološki rizik / Biológiai veszélyes / Rischio biologico / Биологични түгөндүктөр / Biologinis pavojus / Biologiskie riski / Biologisch risico / Biologisk risiko / Zagrożenia biologiczne / Perigo biológico / Riscuri biologice / Биологическая опасность / Biologické riziko / Biološki rizici / Biologisk risk / Biyolojik Riskler / Биологічна небезпека



Caution, consult accompanying documents / Внимание, направте справка в придружаващите документи / Pozor! Prostudujte si příloženou dokumentaci! / Forsigtig, se ledsagende dokumenter / Achtung, Begleitdokumente beachten / Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδευτικά έγγραφα / Precaución, consultar la documentación adjunta / Ettevaatus! Lugege kaasnevat dokumentatsiooni / Attention, consulter les documents joints / UPOZORENJE, koristi prateću dokumentaciju / Figyelem! Olvassa el a mellékelt tájékoztatót / Attenzione: consultare la documentazione allegata / Абайлаңыз, тиісті құжаттармен танысыңыз / Dămesio, ziurekile pridedamus dokumentus / Piesardzība, skatīt pavadokšmentus / Voorzichtig, gaadpleeg bijgevoegde documenten / Forsiktig, se vedlagt dokumentasjon / Należy zapoznać się z dołączonymi dokumentami / Cuidado, consulte a documentação fornecida / Atenție, consultați documentele însoțitoare / Внимание: см. прилагаемую документацию / Výstraha, pozri sprievodné dokumenty / Pažnja! Pogledajte priložena dokumenta / Obs! Se medföljande dokumentation / Dikkat, birlikte verilen belgelere başvurun / Увага: див. супутню документацию



Upper limit of temperature / Горен лимит на температурата / Horní hranice teploty / Øvre temperaturgrænse / Temperaturobergrenze / Ανώτερο όριο θερμοκρασίας / Limite superior de temperatura / Ülemine temperatuuripiir / Limite supérieure de température / Gornja dozvoljena temperatura / Felső hőmérsékleti határ / Limite superiore di temperatura / Temperatūras robeža / Temperatūras robeža / Gornja granica temperatura / Felső hőmérsékleti határ / Augšējā temperatūras robeža / Hoogste temperatuurlimiet / Øvre temperaturgrense / Gorna granica temperature / Limite máximo de temperatura / Limită maximă de temperatură / Верхний предел температуры / Horná hranica teploty / Gornja granica temperature / Øvre temperaturgrens / Sicaklık üst sınırı / Максимальна температура



Keep dry / Пазете сухо / Skladijate v suchém prostredí / Opbevaras tørt / Trocklagern / Φυλάξτε το στεγνό / Manterner seco / Hoida kuivas / Conserver au sec / Držati na suhom / Száraz helyen tartandó / Tenere all'asciutto / Құрғақ күйінде ұста / Laikykite sausai / Uzglabāt sausu / Droog houden / Holdes tørt / Przechowywać w stanie suchym / Manter seco / A se feri de umezeală / Не допускать попадания влаги / Uchovávať v suchu / Držite na suvom mestu / Förvaras torrt / Kuru bir şekilde muhafaza edin / Берегти від вологи



Collection time / Време на събиране / Čas odběru / Opsamlingsstidspunkt / Entnahmeuhrzeit / Ωρα συλλογής / Hora de recogida / Kogumisaeg / Heure de prélèvement / Sati prikupljanja / Mintavétel időpontja / Ora di raccolta / Жынау уақыты / Raemimo laikas / Savākšanas laiks / Verzameltijd / Tid prøvetaking / Godzina pobrania / Hora de colheita / Ora colectării / Время сбора / Doba odboru / Vreme prikupljanja / Uppsamlingsstid / Toplama zamanı / Час забору



Peel / Обелете / Otefete zde / Abn / Abziehen / Αποκαλλύστε / Desprender / Koorid / Décoller / Ottoriti skini / Húzza le / Staccare / Ўстиґи қабатын алып таста / Plești ăia / Allimēt / Schillen / Trekk av / Oderwać / Destacar / Se dezpieste / Отклеить / Odtrhně / Oljušti / Dra isår / Айırма / Відклеїти



Perforation / Перфорация / Perforace / Perforering / Διότρηση / Perforación / Perforatsioon / Perforacija / Perforálás / Perforazione / Текіс теуы / Perforacija / Perforăcia / Perforatie / Perforacja / Perfuração / Perforare / Перфорация / Perforăcia / Perforasyon / Перфорация



Do not use if package damaged / Не използвайте, ако опаковката е повредена / Nepoužívejte, je-li obal poškozený / Må ikke anvendes hvis emballagen er beskadiget / Inhal beschädigter Packung nicht verwenden / Μη χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιά / No usar si el paquete está dañado / Mitte kasutada, kui pakend on kahjustatud / Ne pas l'utiliser si l'emballage est endommagé / Ne koristiti ako je oštećeno pakiranje / Ne használni, ha a csomagolás sérült / Non usare se la confezione è danneggiata / Erep paket bұзылған болса, пайдаланба / Jei pakuoatė pažeista, nenaudoti / Nelietot, ja iepakojums bojāts / Niet gebruiken indien de verpakking beschadigd is / Må ikke brukes hvis pakke er skadet / Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone / Não usar se a embalagem estiver danificada / A nu se folosi dacă pachetul este deteriorat / Не использовать при повреждении упаковки / Nepoužívať, ak je obal poškodený / Ne koristite ako je pakovanje oštećeno / Använd ej om förpackningen är skadad / Ambalaj hasar gördüştüce kullanmayın / Не використовувати за пошкодженої упаковки



Keep away from heat / Пазете от топлина / Nevystavujte přilísnému teplu / Må ikke udsættes for varme / Vor Wärme schützen / Κρατήστε το μακριά από τη θερμότητα / Mantener alejado de fuentes de calor / Hoida eemal valgusest / Protéger de la chaleur / Držati dalje od izvora topline / Övja a melegtől / Tenere lontano dal calore / Салқын жерде сақта / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargāt no karstuma / Beschermen tegen warmte / Må ikke utsettes for varme / Przechowywać z dala od źródła ciepła / Manter ao abrigo do calor / A se feri de căldură / Не награвать / Uchovávať mimo zdroja tepla / Držite dalje od toplote / Får ej utsättas för värme / Isidan uzak tutun / Берегти від дії тепла



Cut / Срежете / Odstřihněte / Klip / Schneiden / Κόψτε / Cortar / Lăigata / Découper / Reži / Vágja ki / Tagliare / Keciңiz / Kirpti / Nogriez / Knippen / Kutt / Odciąć / Cortar / Decupați / Отрезать / Odstrihnite / Iseći / Klipp / Kesme / Розрізати



Collection date / Дата на събиране / Datum odběru / Opsamlingsdato / Entnahmedatum / Ημερομηνία συλλογής / Fecha de recogida / Kogumiskuupäev / Date de prélèvement / Dani prikupljanja / Mintavétel dátuma / Data di raccolta / Жынаған тізбекүні / Raemisko data / Savākšanas datums / Verzameldatum / Dato prøvetaking / Data pobrania / Data de colheita / Data colectării / Дата сбора / Datum odboru / Datum prikupljanja / Uppsamlingsdatum / Toplama tarihi / Дата забору



µL/test / µL/тест / µL/Test / µL/εξέταση / µL/prueba / µL/teszt / мкL/тест / µL/tyrimas / µL/pārbaude / µL/teste / мкL/анализ



Keep away from light / Пазете от светлина / Nevystavujte svetlu / Må ikke udsættes for lys / Vor Licht schützen / Κρατήστε το μακριά από το φως / Mantener alejado de la luz / Hoida eemal valgusest / Conserver à l'abri de la lumière / Držati dalje od svetla / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Қараңғыланған жерде ұста / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargāt no gaismas / Niet blootstellen aan zonlicht / Må ikke utsettes for lys / Przechowywać z dala od źródła światła / Manter ao abrigo da luz / Feríteni de lumină / Хранить в темноте / Uchovávať mimo dosahu svetla / Držite dalje od svetlosti / Får ej utsättas för ljus / Işıktan uzak tutun / Берегти від дії світла



Hydrogen gas generated / Образуван е водород газ / Možnost úniku plynného vodíku / Frembringer hydrogengas / Wasserstoffgas erzeugt / Δημιουργία αερίου υδρογόνου / Producción de gas de hidrógeno / Vesinikgaasi tekitatud / Produit de l'hydrogène gazeux / Sadržaj hydrogen vodik / Hidrogén gázt fejleszt / Produzione di gas idrogeno / Газтектерес сутери пайда болды / Išskiria vandenilio dujas / Rodas ūdeņradis / Waterstofgas gegenereerd / Hydrogengass generert / Powoduje powstawanie wodoru / Produção de gás de hidrogénio / Generare gaz de hidrogen / Выделение водорода / Vyrobené použitím vodíka / Oslobada se vodonik / Genererad vätgas / Açığa çıkan hidrojen gazı / Реакція з виділенням водню



Patient ID number / ИД номер на пациента / ID pacienta / Patientens ID-nummer / Patienten-ID / Αριθμός αναγνώρισης ασθενούς / Número de ID del paciente / Patsiendi ID / No d'identification du patient / Identifikacijski broj pacijenta / Beteg azonosító száma / Numero ID paziente / Пациенттің идентификациялық нөмірі / Paciento identifikavimo numeris / Pacienta ID numurs / Identificatienummer van de patiënt / Pasientens ID-nummer / Numer ID pacijenta / Número da ID do doente / Număr ID pacient / Идентификационный номер пациента / Identifikačné číslo pacienta / ID broj pacijenta / Patientnummer / Hasta kimlik numarası / Идентификатор пациента



Fragile, Handle with Care / Чупливо, Работете с необходимото внимание. / Křehké. Při manipulaci postupujte opatrně. / Forsigtig, kan gå i stykker. / Zerbrechlich, vorsichtig handhaben. / Εύθραυστο. Χειριζτείτε το με προσοχή. / Frágil. Manipular con cuidado. / Örn, käsitsege ettevaatlikult. / Fragile. Manipuler avec précaution. / Lomljivo, rukujte pažljivo. / Törékeny! Óvatosan kezelendő. / Fragile, maneggiare con cura. / Сынғыш, абайлап пайдаланыңыз. / 조심 깨지기 쉬운 처리 / Trapu, elkitės atsargiai. / Trausls; rūkotių uzmanīgi / Breekbaar, voorzichtig behandelen. / Ømtålig, håndter forsigtigt. / Krucha zawartość, przenosić ostrożnie. / Frágil, Manuseie com Cuidado. / Frágil, manipulați cu atenție. / Хрупкое! Обращаться с осторожностью. / Křehké, vyžaduje sa opatrná manipulácia. / Lomljivo - rukujte pažljivo. / Bräckligt. Hantera försiktigt. / Kolay Kırılır, Dikkatli Taşıyın. / Тендітна, звертатися з обережністю / 易碎，小心轻放



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
4 Research Park Drive
Macquarie University Research Park
North Ryde, NSW 2113
Australia

MILLIPORE is a trademark of Millipore Corporation.

BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.